

**Altersabhängige Auswirkungen von Thiopental
auf den Energiestoffwechsel des Gehirns in
neugeborenen und juvenilen Schweinen**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich- Schiller- Universität Jena**

von Susanne Götze,
geb. Uthe
geboren am 14.03.1982 in Mühlhausen

Gutachter:

- 1.** Prof. Dr. Reinhard Bauer, Jena
- 2.** Prof. Dr. Michael Bauer, Jena
- 3.** PD Dr. Harald Georg Fritz, Halle (Saale)

Tag der öffentlichen Verteidigung: 02.09.2014

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	5
Zusammenfassung	7
1 Einleitung	9
1.1 Klinische Bedeutung des Einsatzes von Sedativa/Anästhetika im unreifen Gehirn	9
1.2 Aspekte erhöhter Vulnerabilität des unreifen Gehirns bei Störungen zerebraler Energieversorgung	10
1.3 Aktuelle Vorstellungen zu Hirnentwicklung und zerebralem Energieverbrauch des unreifen Gehirns	12
1.3.1 Allgemeine Hirnentwicklung	12
1.3.2 Besonderheiten des zerebralen Glukosestoffwechsels (GMR_{Glu}) im unreifen Gehirn	14
1.3.3 Besonderheiten von Hirndurchblutung (CBF) und zerebrale Sauerstoffumsatzrate ($CMRO_2$) im unreifen Gehirn	16
1.3.4 Wirkung von Barbituraten auf den zerebralen Energiemetabolismus	18
2 Material und Methoden	23
2.1 Versuchstiere	23
2.2 Versuchsvorbereitungen	23
2.3 Versuchsdurchführung	24
2.4 Durchführung der Analysen und Messungen	25
2.4.1 Allgemeine Analysen	25
2.4.2 Regionale Durchblutungsmessung mittels Farbmikrosphären	26
2.4.3 Messung der regionalen zerebralen Glukoseumsatzrate ($rCMR_{glc}$) mittels Positronen - Emissions - Tomographie (FDG-PET)	28
2.5 Statistische Analyse	29
3 Ergebnisse	30
3.1 Auswirkungen auf physiologische Parameter	30
3.1.1 Kreislaufparameter	30
3.1.2 Arterielle Blutgas-, Säure/ Basen- und metabolische Parameter	31
3.1.3 Hirnvenöse Blutgas-, Säure/ Basen- und metabolische Parameter	32
3.2 Auswirkungen auf hirnelektrische Parameter	34
3.3 Auswirkungen auf die regionale Hirndurchblutung (rCBF)	37
3.4 Auswirkungen auf den zerebralen Energiestoffwechsel	39
3.4.1 Globale Parameter des zerebralen Energiestoffwechsels	39
3.4.2 Regionale Parameter des zerebralen Energiestoffwechsels	40

4	Diskussion	44
4.1	Methodendiskussion	44
4.1.1	<i>Das Tiermodell</i>	44
4.1.2	<i>Versuchsbedingungen und Messmethoden</i>	46
4.2	Diskussion der Ergebnisse	52
4.2.1	<i>Einfluss des Alters und der Thiopentalbehandlung auf zerebralen Glukosemetabolismus und Sauerstoffverbrauch</i>	52
4.2.2	<i>Einfluss des Alters und der Thiopentalbehandlung auf die Hirndurchblutung (CBF)</i>	57
4.2.3	<i>Einfluss des Alters und der Thiopentalbehandlung auf die kardiovaskulären und Blutgas- Parameter, sowie Parameter des Säure-Basenstatus</i>	60
5	Schlussfolgerungen	62
6	Literaturübersicht	64
	Danksagung	71
	Veröffentlichung	71
	Ehrenwörtliche Erklärung	72

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABD	arterieller Blutdruck
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ANOVA	Analysis of Variance
ADP	Adenosindiphosphat
art.	arteriell
ATP	Adenosintriphosphat
avD	arteriovenöse Differenz
AW	Ausgangswert
BOLD	Blood-Oxygenation-Level-Dependent
BS	Burst – Suppression
BSI	Burst – Suppression – Index
BSM	Burst – Suppression – Muster
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CBF	zerebraler Blutfluss, Hirndurchblutung
CBV	zerebrales Blutvolumen
CMR _{glc}	zerebraler metabolische Rate für Glukose
CMRO ₂	zerebraler metabolische Rate für Sauerstoff
CMS	farbmarkierte Mikrosphären
CoA	Coenzym A
CP	Plasma-Aktivität
CPP	zerebraler Perfusionsdruck
CVR	zerebraler Gefäßwiderstand
d	Tag
ECoG	Elektrokortikogramm
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
FDG	Fluor-Deoxy-Glukose
fMRT	funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GTP	Guanosintriphosphat
h	Stunde
hv	hirnvenös

Hb	Hämoglobin
HF	Herzfrequenz
HIE	Hypoxisch-ischämische Enzephalopathie
Hz	Hertz
HZV	Herzzeitvolumen
IE	Injektionseinheit
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
i.m	intramuskulös
Juv	juvenile Ferkel
LC	Lumped-Constant
MABD	mittlerer arterieller Blutdruck
MAC	mittlere alveoläre Konzentration
MW	Mittelwert
N	Anzahl
NG	neugeborene Ferkel
NO	Stickstoffmonoxid
OGI	Oxygen-Glucose-Index
N ₂ O	Distickstoffmonoxid, Lachgas
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
p.c.	post conception
pCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
REM	Rapid-Eye-Movement
ROI	Region of Interest (untersuchte Regionen)
SD	Standardabweichung
TH	Therapeutische Hypothermie
TP	Thiopental
s.o.	Siehe oben
Tab	Tabelle
ZNS	zentrales Nervensystem

Zusammenfassung

Der Einsatz von Sedativa und Anästhetika ist auch im Neugeborenen- und Kleinkindalter zur Schmerzausschaltung und Verhinderung negativer Auswirkungen auf das Schmerzgedächtnis unverzichtbar. Inzwischen ist klar, dass akute Schmerzen schon von frühgeborenen Kindern implizit wahrgenommen und dadurch das Verhalten und vegetative Regulationen nachhaltig beeinflusst werden. Dabei zeigen Neugeborene deutlich stärkere hormonelle, metabolische und kardiovaskuläre Schmerzreaktionen als ältere Kinder, und unzureichende Schmerzbehandlung ist mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert. Jedoch wurde in den letzten Jahren nachgewiesen, dass schon relativ kurzdauernde Anästhetika/Sedativa-Applikationen im unreifen Gehirn zu verstärkter Neuroapoptose und lang anhaltende Lern- und Verhaltensstörungen führen können. Insbesondere konnte tierexperimentell gezeigt werden, dass schon eine einmalige Applikation verschiedener Anästhetika/Sedativa bei therapeutischen Dosierungen zu verstärkter Neuroapoptose führen kann. Deshalb wird von einer potenziell neurotoxischen Wirkung einer Reihe von Anästhetika/Sedativa einschließlich der Barbiturate gesprochen. Jedoch ist eine neuroprotektive Wirkung von Anästhetika/Sedativa auch im unreifen Gehirn bei krankhaften Zuständen, wie nach hypoxisch-ischämischer Enzephalopathie (HIE), insbesondere durch Verhinderung posthypoxischer Krampfkaktivität, nachgewiesen worden.

Das Ausmaß der Suppression des zerebralen Energiestoffwechsels durch Reduktion der zerebralen Signalverarbeitung infolge tiefer Sedierung mittels Anästhetika/Sedativa wurde bislang im unreifen Gehirn nicht ermittelt. Deren Relevanz hinsichtlich einer potenziell neuro-protektiven Bedeutung infolge eines verminderten zerebralen Energiebedarfs ist somit bislang unbekannt. Deshalb wurde in einer tierexperimentellen Studie bei leichter Sedierung (Isofluran-Lachgasgemisch-Inhalation) und tiefer Anästhesie (Thiopental-Infusion) der zerebrale Energiestoffwechsel durch Bestimmung der globalen Sauerstoff- (CMRO₂) und Glukoseumsatzrate (CMR_{glc}) mittels modifizierter Kety-Schmidt Methode, der zerebrale Blutfluss (CBF) mittels der Farbmikrosphärentechnik sowie die regionale CMR_{glc} durch quantitative Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ermittelt.

Dazu wurden an neugeborenen (Alter: 2-4 Tage, n=14, Gewicht: $2,1 \pm 0,3$ kg) und juvenilen Ferkeln (Alter: 6-8 Wochen, n=11, Gewicht: $13,6 \pm 1,4$ kg) die Auswirkung von milder und tiefer Sedierung auf die Sauerstoff- und Glukoseumsatzrate untersucht. Tiefe

Sedierung wurde elektrophysiologisch durch das Auftreten des Burst Suppression-Musters (BSM) im Elektrokortikogramm (ECoG) gekennzeichnet.

Bei leichter Sedierung war die globale zerebrale Glukoseumsatzrate bei neugeborenen Ferkeln mit $32 \pm 6 \mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$ etwa 20% niedriger als bei juvenilen Ferkeln ($40 \pm 6 \mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$, $P < 0,05$). Dabei war die CMR_{glc} bei neugeborenen Ferkeln regional unterschiedlich stark ausgeprägt. Im Cortex und in den Basalganglien war sie im Vergleich mit juvenilen Ferkeln signifikant niedriger ($P < 0,05$). In den anderen untersuchten Regionen (Thalamus, Hippocampus, Mittelhirn, Kleinhirn) war der Unterschied der CMR_{glc} zwischen neugeborenen und juvenilen Tieren weniger deutlich ausgeprägt.

Tiefe Sedierung, gekennzeichnet durch ein identisches Ausmaß eines Burst Suppression-Musters im ECoG, führte bei juvenilen Ferkeln zu einem deutlich stärkeren Abfall der regionalen CMR_{glc} ($P < 0,05$) als bei neugeborenen Ferkeln. Der CMR_{glc} -Abfall war im Cortex juveniler Tiere mit etwa 40% am stärksten und im Kleinhirn mit etwa 25% am geringsten ausgeprägt. Dem gegenüber war die Reduktion der regionale CMR_{glc} im Gehirn Neu-geborener weniger stark ausgeprägt (im Cortex um 30%, Kleinhirn um 10%) und wies in Bezug auf die Werte im juvenilen Gehirn jeweils eine Differenz von 10 – 25% auf ($\Delta \text{CMR}_{\text{glc}}$, $P < 0,05$).

Diese Resultate legen nahe, dass der Anteil des zerebralen Energiestoffwechsels, der für die zerebrale Signaltransduktion erforderlich ist (und durch tiefe Narkose supprimiert wird) im unreiferen Neugeborenengehirn deutlich geringer ist als im ausgereifteren Zustand. Dies deutet auf einen erhöhten Energieaufwand für anabole Prozesse im Rahmen der Hirnentwicklung im unreiferen Gehirn hin. Daraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass eine therapeutische Intervention zur Neuroprotektion durch Senkung des zerebralen Energiebedarfs im Neugeborenentalter durch Suppression der Hirnaktivität weniger effizient ist als im ausgereiften Gehirn.

1 Einleitung

1.1 Klinische Bedeutung des Einsatzes von Sedativa/Anästhetika im unreifen Gehirn

In den vergangenen zwei Jahrzehnten vollzog sich eine grundlegende Umorientierung bei der Behandlung von Schmerzzuständen bei Säuglingen und Kleinkindern einschließlich der Früh- und Neugeborenen. Dies beruhte auf der Erkenntnis, dass akute Schmerzen schon von frühgeborenen Kindern implizit wahrgenommen werden, und dadurch das Verhalten und die vegetative Regulation nachhaltig beeinflusst werden (Menon, Anand et al. 1998). So können vagale Aktivierungen infolge invasiver Prozeduren zu akuten Verminderungen der Hirndurchblutung (CBF) führen (Haxhija, Rosegger et al. 1995). Insgesamt zeigen Neugeborene deutlich stärkere hormonelle, metabolische und kardiovaskuläre Schmerzreaktionen als ältere Kinder (Anand 2001). Unzureichende Schmerzbehandlung ist mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert (Anand, Sippell et al. 1987). Somit wurde aus ethischen und medizinischen Gründen eine adäquate Schmerzausschaltung, einschließlich Sedierung und Allgemeinanästhesie, bei erforderlicher Intensivüberwachung bzw. operativen/interventionellen Eingriffen empfohlen und ist zum klinischen Standard geworden (guidelines 2000).

Wegweisende Untersuchungen zum Einfluss von Barbituraten und anderer Anästhetika /Sedativa auf die strukturelle Entwicklung des unreifen Gehirns haben in den letzten Jahren verstärkt die Aufmerksamkeit experimentell und klinisch tätiger Neonatologen, Neuropädiater und Kinderanästhesisten auf etwaige Folgen des Einsatzes von Anästhetika/Sedativa auf die Hirnentwicklung, einschließlich Lern- und Verhaltensvermögen, gerichtet (Übersicht in (Istaphanous, Ward et al. 2010). Dabei wurde festgestellt, dass schon relativ kurzdauernde Anästhetika/Sedativa-Applikationen im unreifen Gehirn zu verstärkter Neuroapoptose und lang anhaltende Lern- und Verhaltensstörungen führen können (Ikonomidou, Bosch et al. 1999; Jevtovic-Todorovic, Hartman et al. 2003; Brambrink and Orfanakis 2010). Jedoch ist das Auftreten derartiger Auswirkungen beim Menschen bislang unklar (Stratmann 2011; Williams 2011). Dabei steht außer Frage, dass bei erforderlichen schmerzhaften Behandlungen neben ethischen auch biomedizinische Gründe für die Schmerzausschaltung unumgänglich sind.

Ein weiterer Aspekt des Einsatzes von Anästhetika/Sedativa ist deren inhärente neuroprotektive Wirkung bei transienten/andauernden zerebralen Durchblutungsstörungen oder

anderen Insulten, die mit Störungen der zerebralen Energiebilanz einhergehen können (z. B. Krampfanfälle oder traumatische Hirnverletzungen) (Warner, Takaoka et al. 1996; Statler, Alexander et al. 2006; Barks, Liu et al. 2010). Es liegen inzwischen nachhaltig geprüfte Evidenzen vor, dass im reifen Gehirn die grundlegenden Anästhesie/Sedierung – auslösenden Mechanismen der rezeptorvermittelten Hemmung exzitatorischer Prozesse (meist MNDA-Blockierung) u/o Stimulation inhibitorischer Einflüsse (meist GABAA-Aktivierung) bei Hirnischämien u.a. neuroprotektiv wirken (Koerner and Brambrink 2006). Wirksame Neuroprotektion nach hypoxisch-ischämischer Encephalopathie (HIE) im Neugeborenenalter durch milde Hypothermie ist inzwischen klinische Praxis, kann jedoch offensichtlich durch zusätzliche Antiepileptika u/o Sedativa-Applikation (Glutamat-Antagonisten) effektivere Wirkung erzielen (Cilio and Ferriero 2010). Jedoch liegen bislang keine systematischen Studien vor, die den Einfluss von Anästhetika/Sedativa auf den Energiestoffwechsel des unreifen Gehirns untersucht haben. Somit ist es bislang unbekannt, welche Bedeutung dieser potenziell neuroprotektiven Wirkung von Anästhetika/Sedativa in dieser vulnerablen Entwicklungsperiode des Gehirns zukommt.

1.2 Aspekte erhöhter Vulnerabilität des unreifen Gehirns bei Störungen zerebraler Energieversorgung

Das Gehirn ist ein komplexes Organ, das auf äußere Einflüsse empfindlich reagiert. Häufigste Ursache für eine Schädigung des Gehirns in der frühen Kindheit ist ein einmaliges bzw. hypoxisch-ischämisches Ereignis, wodurch verschiedene Hirnfunktionen dauerhaft beeinträchtigt sein können. Schmerzen und Stress, Entzündungsreaktionen (Zytokine), Umwelteinflüsse (Pestizide, Medikamente, Alkohol, Drogen) und genetische Prädispositionen stellen dabei weitere wichtige Einflussfaktoren dar, die sich negativ auf neurologische Funktionen auswirken können (Istaphanous, Ward et al. 2010). Die Folgen können von einer minimalen zerebralen Dysfunktion, Entwicklungsstörungen wie z.B. Verhaltensauffälligkeiten, Intelligenzminderung und motorischen Defiziten bis hin zu Lähmungen und Krampfleiden reichen.

Um das kindliche Gehirn vor möglichen Hirnschäden durch Minderdurchblutung, Asphyxie oder Hypoglykämie bewahren zu können, ist es notwendig, die Pathophysiologie neuro-logischer Schädigungen und das Schädigungsmuster im ausreifenden Gehirn näher zu verstehen. In diesem Zusammenhang spielt der Stoffwechsel des Gehirns eine

entscheidende Rolle. Verglichen mit anderen Organen des Körpers ist die Stoffwechselaktivität des Gehirns hoch. Mit einem Anteil von ca. 2% am Körpergewicht beträgt der Anteil des benötigten Herzzeitvolumens (HZV), Sauerstoffumsatzes und Glukoseverwertung des Gehirns, eines erwachsenen Menschen unter Ruhebedingungen, etwa 20% des gesamten Körpers. Demgegenüber macht das Gehirn des Neugeborenen einen Anteil von ~12% des Körpergewichtes aus und benötigt bis zu 90% des gesamten Glukoseumsatzes (Flecknell, Wootton et al. 1982). Dabei sind im reifen Gehirn 40-60% der aus oxidativer Phosphorylierung stammender ATP-Produktion für die Aufrechterhaltung bzw. Wiederherstellung der transmembranalen Ionengradienten von Na^+ , K^+ , Ca^{2+} und Cl^- erforderlich, um eine Stabilisierung des Ruhemembranpotentials zu gewährleisten (Erecinska, Cherian et al. 2004). Hauptverbraucher ist dabei die membranständige Na^+/K^+ -ATPase, die nach Membrandepolarisation durch transmembranalen Ionentransport gegen den vorherrschenden Ionengradienten die Repolarisierung der Plasmamembran bewerkstelligt.

Das Gehirn ist in allen Entwicklungsphasen unmittelbar abhängig von einer permanent ausreichenden Durchblutung, da nur minimale Speicherreserven an Glukose, dem wichtigsten Energiesubstrat, und Sauerstoff im Gehirn existieren. Dabei führt ein Unterschreiten der bedarfsgerechten Versorgung des Gehirns mit Glukose und Sauerstoff zunächst zu einer Beeinträchtigung der zerebralen Signalverarbeitung, dem so genannten Funktionsstoffwechsel. Somit wird durch die daraus resultierende Energieeinsparung (s.o.) eine endogene Neuroprotektion wirksam. Bei zunehmender Einschränkung der Substratmangelversorgung (< 15% der Normalversorgung) kommt es im ausgereiften Gehirn letztendlich zu Beeinträchtigungen des Basisstoffwechsels, der hauptsächlich der Aufrechterhaltung der intra-/extrazellulären Ionengradienten dient, was final in einer terminalen neuronalen Depolarisation mündet und damit durch N^+ - und Ca^{2+} -Einstrom zu Zellschwellung und Proteasenaktivierung und damit zum definitiven Zelluntergang (Nekrose) führt. Jedoch wird schon bei einer länger anhaltenden Durchblutungs-minderung auf ~30-15% der Normalversorgung Neuroapoptose induziert und neuroinflammatorische Prozesse aktiviert, wodurch ein progredienter Neuronenuntergang resultieren kann (Dirnagl, Iadecola et al. 1999).

Ältere Untersuchungen zur Anoxie-Toleranz haben gezeigt, dass in der spätfetalen und frühpostnatalen Entwicklungsperiode die Überlebenszeit bei komplettem O_2 -Mangel bei zunehmender Reife dramatisch abnimmt und invers mit der ansteigenden zerebralen

Energieumsatzrate korreliert (Duffy, Kohle et al. 1975). Nachfolgende Untersuchungen zum altersabhängigen Ausmaß der Hirnschädigung bei hypoxisch-ischämischem Insult zeigten eine erhebliche Zunahme des Hirnschadens im Altersgang (Towfighi, Mauger et al. 1997). Diese Befunde begründeten die Schlussfolgerung einer erhöhten Hypoxie-Toleranz des unreifen Gehirns, da ein verminderter zerebraler Energiebedarf mit einem vermindertem hypoxisch-ischämischem transmembranalem Ionenverlust verbunden ist (Erecinska, Cherian et al. 2005). Demgegenüber haben eine Vielzahl von Untersuchungen zur Pathogenese hypoxisch-ischämischer Hirnschädigung in der Perinatalperiode nachgewiesen, dass das Gehirn in dieser kritischen Entwicklungsphase eine Reihe von Merkmalen aufweist, das es besonders vulnerabel für Schädigungen macht. Es können spezifische, klinisch relevante Schädigungsmuster, wie hypoxisch-ischämische Enzephalopathie (HIE), neonatale Hirninfarkte, intraventikuläre Blutungen bzw. periventrikuläre Leukomalazie, hervorgerufen werden (Johnston, Fatemi et al. 2011). Die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen betreffen eine erhöhte Anfälligkeit für Exzitotoxizität aufgrund erhöhter Expression von Glutamatrezeptoren in dieser Entwicklungsphase (McDonald and Johnston 1990) und verstärkter Vulnerabilität mitochondrialer Integrität bei temporärem O₂-Mangel mit daraus resultierender verstärkter Induktion mitochondrial verursachter Apoptose (Blomgren and Hagberg 2006).

Insgesamt ist das Forschungsgebiet der molekularen Pathogenese der hypoxisch-ischämischen Hirnschädigung des unreifen Gehirns gegenwärtig in einer dynamischen Entwicklung begriffen (Johnston, Fatemi et al. 2011). Es ist zu erwarten, dass in Ergänzung der klinisch etablierten Neuroprotektion durch therapeutische Hypothermie bei HIE des reifen Neugeborenen in nächster Zeit weitere therapeutische Optionen klinische Relevanz erlangen werden (Bauer and Schubert 2012).

1.3 Aktuelle Vorstellungen zu Hirnentwicklung und zerebralem Energieverbrauch des unreifen Gehirns

1.3.1 Allgemeine Hirnentwicklung

Die embryonale Organogenese beginnt mit der Strukturierung der ektodermalen Anlagen des ZNS und ist gekennzeichnet durch eine rasante neuronal/gliäre Proliferation und gerichtete Migration, wodurch sich die dorsal gelegene Neuralplatte des Keimlings zum Neuralrohr faltet, aus dessen Vorderende sich das Gehirn entwickelt. Durch

Abschnürungen im vorderen Bereich des Neuralrohres entwickeln sich das spätere Vorderhirn, Mittelhirn und Hinterhirn. Das Innere des Neuralrohrs bildet den Spinalkanal und das Ventrikelsystem aus. In dieser frühen Phase der Organogenese ist das Gehirn gegenüber äußeren Einflüssen besonders sensibel, und Störungen bewirken die auffallendsten Veränderungen der künftigen Organe. Die Differenzierung der Hirnteile in dieser frühen Phase der Entwicklung kann als vollendet betrachtet werden, wenn die Mitose der Neuroblasten weitgehend abgeschlossen ist, und die Zellkerne ihre endgültige Größe erreicht haben. Die anschließende Phase wird auch als „Flexners kritische Periode“ bezeichnet, da hier eine Reihe neuer Entwicklungsschritte beginnen, welche beim Menschen ca. in der 25. Schwangerschaftswoche beginnen. Diese 2. Phase beinhaltet Reifungs- und Wachstumsprozesse, inklusive des sogenannten „Brain Growth Spurt (s. u.)“. Axon- und Dendritenwachstum, Bildung neuronaler Verknüpfung, Proliferation der Oligodendrogliazellen und Myelinisierung, sowie die Differenzierung in graue und weiße Substanz sowie Anpassungsprozesse auf biochemischer Ebene sind die entscheidenden Merkmale dieser perinatalen Entwicklungsphase der Hirnentwicklung. Dabei ist typisch, dass diese Entwicklungsphase bei Säugetieren bezüglich des Geburtstermins sehr unterschiedlich verläuft (Semple, Blomgren et al. 2013).

Insbesondere durchläuft das Säugerhirn in seiner Entwicklung eine Phase sehr raschen Wachstums, dem so genannten „Brain Growth Spurt“. Diese rasche Gehirnentwicklung läuft bei den verschiedenen Säugetierspezies hinsichtlich des Geburtszeitpunktes unterschiedlich ab, sodass ein erheblich unterschiedlicher Reifegrad des ZNS zum Geburtszeitpunkt resultiert und eine Einordnung der Säugetiere in pränatale, perinatale und postnatale Hirnentwickler als sinnvoll erscheint. Dies ist auch deshalb naheliegend, weil sich damit bei vergleichenden Betrachtungen die in ihrer Dauer sich erheblich unterscheidenden zerebralen Entwicklungszustände hinsichtlich der besonders vulnerablen späten intrauterinen/intra- und frühen postnatalen Übergangsphase entsprechend zuordnen lassen. Danach sind Meerschweinchen, Affe und Schaf (und andere „Nestflüchter“) als pränatale Hirnentwickler zu betrachten, die eine weitgehend ausgereifte strukturelle und funktionelle Hirnentwicklung bei Geburt aufweisen. Im Gegensatz dazu sind Labornager (Maus, Ratte), sowie Katzen und Hunde postnatale Hirnentwickler, da sie mit einem sehr unreifen Gehirn geboren werden und wesentliche strukturelle und funktionelle Entwicklungsstufen erst postnatal ausbilden. Dem gegenüber gehören Mensch, Schwein und Kaninchen zu den perinatalen Hirnentwicklern. Bei diesen Spezies ist typischerweise ein perinataler Hirnwachstumsspur nachweisbar (Dobbing and Sands 1973). Die

Hirnwachstumsgeschwindigkeit verläuft glockenförmig und ist bei diesen Spezies zum Zeitpunkt der Geburt am höchsten. Auf Grund der weitgehend übereinstimmenden zerebralen Wachstums- und Entwicklungsmuster eignet sich daher das neugeborene Schwein gut als Tiermodell zur Analyse neonataler Hirnfunktionen und deren Störungen (Bauer, Walter et al. 2003).

1.3.2 Besonderheiten des zerebralen Glukosestoffwechsels (GMR_{Glu}) im unreifen Gehirn

Das Gehirn verbraucht permanent Energie, die hauptsächlich durch oxidative Phosphorylierung von Glukose zu CO_2 und H_2O bereitgestellt wird. Für eine ungestörte Funktionalität muss die ständige Versorgung mit Glukose über das Blut und ein ausreichendes Angebot von Sauerstoff gewährleistet sein, da – wie schon erwähnt – nur sehr geringe zerebrale Speicher für diese essentiellen Metabolite existieren (Erecinska, Cherian et al. 2004). Die Nervenzelle gewinnt dabei ihre Energie hauptsächlich über den aeroben Stoffwechselweg, dessen drei wichtigste Komponenten die zytosolische Glykolyse, der in der Matrix der Mitochondrien ablaufende Citratzyklus und die Atmungskette (mit den Komplexen (I, II, III und IV), sowie der ATP-Synthase (Komplex V in der inneren Membran der Mitochondrien) sind. Die Glykolysereaktionen können unter anaeroben und aeroben Bedingungen ablaufen, wobei Glukose über den Emden-Meyerhof-Weg zu Pyruvat umgesetzt wird. In Anwesenheit von Sauerstoff wird Pyruvat, nachdem es zu Acetyl-Coenzym-A (Acetyl-CoA) decarboxyliert wurde, in den Citratzyklus eingespeist. Dort wird es unter Energiegewinnung (1 Mol GTP) und Bildung von Reduktionsäquivalenten (3 Mol $NADH + H^+$, 2 Mol $FADH_2$) unter Abgabe von Kohlenstoffdioxid weiter abgebaut. Der an die Coenzyme gebundene Wasserstoff wird der mitochondrialen Atmungskette zugeführt, um dort durch eine Reihe von Redoxvorgängen und Elektronentransfers die erforderliche chemische Energie bereit zu stellen, damit durch die ATP-Synthase aus ADP und Phosphat der universelle Energielieferant ATP synthetisiert werden kann. Dabei entstehen über den oxidativen Stoffwechselweg aus einem Mol Glukose 38 Mol ATP. Dieser fundamentale Stoffwechselweg der oxidativen Phosphorylierung ist schon im unreifen Gehirn etabliert (Erecinska, Cherian et al. 2004).

In Abwesenheit von Sauerstoff wird Pyruvat zu Laktat unter Bildung von 2 Mol ATP abgebaut. Dies zeigt die Ineffizienz der anaeroben Glykolyse, da sie nur 1/19 der unter aeroben Bedingungen gewonnenen Energie hervorbringt. Damit kann auch im unreifen

Gehirn der Energiebedarf zum Strukturerhalt nicht gedeckt werden (Vannucci and Vannucci 2000).

Wichtigster Energiespeicher ist ATP. Daneben stellen ADP und Creatinphosphat wichtige Speichermetabolite dar. Die Creatinphosphokinase und die Adenylatkinase helfen auch in Situationen erhöhten Energiebedarfs, eine konstante Versorgung mit ATP zu gewährleisten. Über die gesamte Periode der Hirnreifung vom Fetus bis zum Erwachsenenalter bleibt der neuronale ATP-Gehalt weitgehend konstant und weist auch innerhalb der untersuchten Säugetierspezies mit $\sim 1,5\text{--}3\text{ }\mu\text{mol/g}$ vergleichbar hohe Werte auf (Erecinska, Cherian et al. 2004).

Wie bereits erwähnt, ist Glukose unter physiologischen Bedingungen in allen Altersstufen der dominierende Energielieferant. In Situationen mangelnder Glukoseverfügbarkeit ist auch das perinatale Gehirn fähig, andere Substrate zu metabolisieren und dadurch einen temporären Glukosemangel zu substituieren. Das stellt eine wichtige Adaptationsmöglichkeit des Neugeborenen dar. So können insbesondere in der Übergangsperiode nach Geburt und damit verbundener Unterbrechung der plazentaren Substratversorgung sowohl Laktat als auch die Ketonkörper Acetoacetat und β -Hydroxybutyrat zur Energiegewinnung genutzt werden (Hawkins, Williamson et al. 1971; de Costello, Pal et al. 2000). Intrauterin ist die fetale (parenterale) Ernährung überwiegend kohlenhydratreich und fettarm, so dass Glukoneogenese und Ketogenese kurz nach der Geburt noch unzureichend in der Leber vorhanden sind. Jedoch werden diese Funktionen beim Menschen innerhalb von wenigen Stunden etabliert und gewährleisten bei reifen Neugeborenen die zerebrale Glukoseversorgung (Kalhan, Parimi et al. 2001).

Mit zunehmender Reifung des Gehirns und die damit erheblich zunehmenden Hirnfunktionen infolge Dendritenausbildung, Synaptogenese und fortschreitender Myelinisierung steigen zerebraler Energiebedarf und Glukoseverbrauch. Diese grundlegenden Erkenntnisse konnten schon in ersten systematischen Studien an Hunden und Ratten nachgewiesen werden. So konnte nachgewiesen werden, dass während der Entwicklung die Zunahme der Glukoseverbrauchsrate mit einem parallelen Anstieg im Sauerstoffverbrauch einhergeht (Tyler and van Harreveld 1942). Phylogenetisch ältere Hirnregionen (Hirnstamm) reifen dabei eher und zeigen somit einen höheren oxidativen Stoffwechsel als die phylogenetisch jüngeren Hirnregionen des Vorderhirns (Himwich and Fazekas 1941).

Mit der Entwicklung nicht-invasiver Techniken zur Bestimmung des zerebralen Energiestoffwechsels, insbesondere der Positronen-Emissions-Tomographie (PET), konnten diese entwicklungsbedingten Veränderungen des regionalen zerebralen Glukoseumsatzes ($rCMR_{Glc}$) auch beim Menschen verifiziert werden. So konnten Chugani und Phelps (1986) nachweisen, dass menschliche Neugeborene eine ca. 30 % niedrigere kortikale CMR_{Glc} aufweisen, als junge Erwachsene. Bei 5 Wochen alten Kindern waren die höchsten Glukoseumsatzraten im sensomotorischen Cortex, Hirnstamm, Thalamus und Kleinhirnwurm nachweisbar. Im Alter von 3 Monaten stieg die CMR_{Glc} im parietalen, temporalen und okzipitalen Cortex sowie der Basalganglien, währenddessen sich nach 8 Monaten eine deutliche Erhöhung im frontalen Cortex zeigte. Dieser Anstieg der regionalen Glukoseverwertung während der Reifung steht in Übereinstimmung mit den Verhaltens-, neurophysiologischen – und anatomischen Veränderungen (Chugani and Phelps 1986). In den ersten 4 Lebensjahren vollzieht sich eine dramatische Zunahme der kortikalen CMR_{Glc} , die das adulte Niveau um das Doppelte übersteigt. Dies reflektiert den temporären Synapsenüberschuss und die damit verbundene erhöhte Hirnplastizität und Lernfähigkeit. In der Adoleszenz sinkt die Glukoseverbrauchsrate, um im Alter von 16-18 Jahren das Erwachsenenenniveau zu erreichen (Chugani 1998).

1.3.3 Besonderheiten von Hirndurchblutung (CBF) und zerebrale Sauerstoffumsatzrate ($CMRO_2$) im unreifen Gehirn

Unter physiologischen Bedingungen ist die lokale Hirndurchblutung auch schon im Neugeborenenalter eng an den metabolischen Bedarf des zu versorgenden Gewebes gekoppelt (Vannucci and Yager 1998). Aus einer zeitlich gestaffelten regionalen Reifung des Gehirns resultiert eine deutliche Heterogenität der regionalen Durchblutung, wobei meist die reiferen Strukturen eine höhere Durchblutung aufweisen als unreifere Regionen (Ashwal, Dale et al. 1984). Eine den regionalen/lokalen Erfordernissen angepasste Hirndurchblutung zur adäquaten Energiebereitstellung, resultiert aus einer multifaktoriellen Einstellung des regionalen/lokalen zerebrovaskulären Widerstandes (CVR). Die Hauptfaktoren der CVR-Regulation sind der zerebrale Perfusionsdruck (Differenz aus arteriellem Mitteldruck und intrakraniell Druck), chemische Einflüsse (vor allem der lokale pO_2 und pCO_2), metabolische Mechanismen im Rahmen funktioneller Aktivierung (u.a. Transmitter, wie Glutamat, aber auch Prostaglandine und Stickstoffmonoxid, NO) und neurogene Effekte (u.a. Freisetzung von NO aus aktivierten Nervenendigungen) (Greisen 2005). Eine wesentliche Rolle bei der Einstellung des CVR

kommt dem Endothel der Hirngefäße zu, das schon im unreifen Gehirn neben NO eine Vielzahl weiterer vasodilatatorischer und vasokonstriktorischer Mediatoren freisetzen kann. Mit zunehmender Hirnreifung steigt die vasodilatatorische Kapazität des Endothels (Williams, Hull et al. 2005). Jedoch steht außer Frage, dass eine kontinuierliche und weitgehend konstante globale Hirndurchblutung, die unabhängig von Fluktuationen des systemischen Blutdruckes ist, eine Grundvoraussetzung für lokale Prozesse der Durchblutungsregulation darstellt (Liem and Greisen 2010). Diese basale Stabilisierung der zerebralen Blutversorgung ist das Resultat der zerebralen Autoregulation, die schon beim reifen Feten und beim Neugeborenen funktionstüchtig ist (Hernandez, Brennan et al. 1980; Tweed, Cote et al. 1983). Der autoregulatorische Bereich ist im unreifen Gehirn jedoch deutlich eingeschränkt und umfasst niedrigere Bereiche des effektiven zerebralen Perfusionsdruckes, als dies vom reifen Gehirn bekannt ist (Laptook, Stonestreet et al. 1982; Walter, Aisenpreis et al. 2010). Bei Unterschreiten der unteren Schwelle des Autoregulationsbereiches resultiert partielle Ischämie.

Die Fähigkeit des Gehirns sich veränderten Versorgungsbedingungen anzupassen, existiert bereits im unreifen Gehirn (Pryds, Tonnesen et al. 2005). Mit steigendem Alter und Reife der jeweiligen Hirnregion erhöht sich die Effektivität der Autoregulationsreaktion (Tuor and Grewal 1994). Auf die zerebrale Durchblutung und Autoregulationsfähigkeit haben viele Elemente Einfluss.

Hirndurchblutung und zerebrale Sauerstoffumsatzrate stehen in engem Zusammenhang mit dem zerebralen Glukosestoffwechsel. Bei allen Säugetieren steigen CBF und CMRO₂ während der Entwicklung. Das Ausmaß der postnatalen Veränderungen, als auch die Unterschiede zwischen den verschiedenen Hirnregionen differieren jedoch stark zwischen den verschiedenen Spezies, halten jedoch Schritt mit der jeweiligen anatomischen und funktionalen Reifung. Der größte Anstieg erfolgt bei Tieren, die zur Geburt unreif sind, wie Hund, Ratte, Katze etc. Bei Tieren, die deutlich reifer geboren werden (Schaf, Schwein), fällt der Anstieg während der Entwicklung dagegen geringer aus (Erecinska, Cherian et al. 2004).

1.3.4 Wirkung von Barbituraten auf den zerebralen Energiemetabolismus

In diesem Abschnitt soll die Wirkweise von Anästhetika, insbesondere der Barbiturate, näher betrachtet werden. Anästhetika sind in der Lage, unterschiedliche Grade der Suppression zerebraler Funktionen (Sedierung/Hypnose/Narkose) zu bewirken und beeinflussen somit sowohl Vigilanz (Wachheit) als auch das Bewusstsein.

Barbiturate zählen neben Benzodiazepinen, Propofol und volatilen Anästhetika (Desfluran oder Sevofluran) zu den klassischen Anästhetika (Boveroux, Bonhomme et al. 2008). Gamma-Aminobuttersäure (GABA) ist der wichtigste inhibitorische Transmitter im ZNS und führt zu einer Suppression der neuronalen Aktivität. Der Aktivierung des GABA_A-Rezeptorkomplexes in strategisch entscheidenden Regionen des Gehirns (Thalamus, Cortex, unterer Hirnstamm) kommt somit bei der graduell zunehmenden Einschränkung der Vigilanz bis hin zur tiefen Bewusstlosigkeit eine entscheidende Rolle zu. Die klassischen Anästhetika wirken dabei als indirekte Agonisten durch Bindung am GABA_A-Rezeptorkomplex, wodurch ein vermehrter GABA-induzierter Chlorideinstrom bewirkt wird, so dass die inhibitorischen Effekte von GABA verstärkt werden. Barbiturate können auch GABA-unabhängig eine direkte Aktivierung des Chloridkanals an inhibitorischen Neuronen aktivieren (direkter Agonist) (Franks 2008).

Veränderungen des Bewusstseins können physiologisch (Schlaf), pharmakologisch (Allgemeinanästhesie) oder pathologisch (vegetatives Stadium, Koma) induziert werden (Boveroux, Bonhomme et al. 2008). Eine Vollnarkose oder Allgemeinanästhesie wird definiert als ein pharmakologisch induzierter, reversibler Zustand, der Bewusstlosigkeit, Amnesie, Analgesie und Akinesie hervorruft. Dieser Zustand ähnelt dem Koma, das meist Folge einer schweren Hirnverletzung durch Trauma, Schlaganfall oder Intoxikation ist und ebenfalls durch eine tiefe Bewusstlosigkeit, fehlende Schmerzreaktion, fehlende Pupillenreagibilität und zum Teil durch eine ungleichmäßige Atmung charakterisiert ist. Dabei ähneln sich die EEG-Muster komatöser und narkotisierter Patienten. Je nach Tiefe der Anästhesie oder dem Ausmaß des Hirnschadens variieren die EEG-Muster, sind aber am häufigsten durch eine niederfrequente und hochamplitudige Aktivität gekennzeichnet. Aktuelle Vorstellungen gehen davon aus, dass die Allgemeinanästhesie eher einem pharmakologisch-induziertem reversiblen Koma als dem funktionellen Korrelat des tiefen Schlafes entspricht (Brown, Lydic et al. 2010; Sandlin-Leming 2011). Dennoch bestehen zum Non-REM-Schlaf typische Gemeinsamkeiten wie die Deaktivierung bestimmter

Hirnregionen (z.B. Thalamus, Precuneus, posteriorer cingulärer Kortex). Es sind jedoch auch erhebliche Unterschiede evident, wie die Fähigkeit der Wahrnehmung externer Stimuli während des Schlafes (Franks and Zecharia 2011).

Abhängig von der Tiefe der Anästhesie lassen sich charakteristische EEG-Muster nachweisen. Beginnend mit einer paradoxen Erregung, in der die Beta-Aktivität zunimmt, folgt in Phase 1 und 2 eine zunehmende Verlangsamung der Hirnaktivität (zunehmende Theta- und Delta-Aktivität) besonders in den vorderen Hirnabschnitten („Anteriorization“). In Phase 3 ist das EEG isoelektrisch und wird in bestimmten Abständen durch (meist hochamplitudige) Alpha- und Beta-Aktivität unterbrochen. Dieses charakteristische EEG-Muster wird Burst-suppression-Muster genannt. Dieses Stadium überschreitet in seiner Intensität das tiefste Schlafstadium (Slow-wave-Stadium). Im tiefsten Stadium einer Allgemeinanästhesie wird ein isoelektrisches EEG (Phase 4) nachgewiesen.

Mittels PET-Untersuchungen konnte im Erwachsenen Gehirn proportional zur Anästhetietiefe ein entsprechend abnehmender zerebraler Energiemetabolismus nachgewiesen werden. In der Phase der „Anteriorization“ sinkt dabei besonders im frontalen Cortex, Striatum und Thalamus der zerebrale Energiemetabolismus, während eine globale Suppression ab dem Burst-suppression-Stadium nachweisbar war (Brown, Lydic et al. 2010). Dabei wurde beim Menschen unter Propofol-Anästhesie im gesamten Gehirn eine CMR_{Glc} -Senkung nachgewiesen, die jedoch zwischen den verschiedenen Hirnregionen deutlich variierte. Der kortikale Metabolismus wurde um bis zu 58%, der subkortikale Metabolismus um bis zu 48% supprimiert (Alkire, Haier et al. 1995). In einer weiteren Studie wurden die Auswirkungen einer Propofolanästhesie auf CBF und CMR_{Glc} verglichen. Insgesamt sank der CBF um 47%, die CMR_{Glc} um 54%, bei unterschiedlich starker Suppression zwischen weißer und grauer Substanz. Die ausgeprägtesten Reduktionen konnten in einigen kortikalen Hirnstrukturen sowie dem Thalamus nachgewiesen werden (Schlunzen, Juul et al. 2012). Ältere Studien untersuchten auch die zerebrometabolischen Auswirkungen bei Thiopentalanästhesie im adulten Gehirn. So wurde eine maximale Reduktion von CBF und $CMRO_2$ um jeweils 58% nachgewiesen (Michenfelder 1974; Bjorkman, Nilsson et al. 1994).

Nemoto und Mitarbeiter differenzierten den zerebralen O_2 -Metabolismus in einen Anteil, der durch Thiopental suppressierbar ist und einen Anteil, der nicht durch Thiopental suppressierbar ist. Sie nahmen an, dass der durch Thiopental suppressierbare Anteil diejenigen energieverbrauchenden Prozesse umfasst, die durch synaptischer Aktivität

hervorgerufen werden. Demgegenüber entspricht der nicht durch Thiopental suppressierbar Anteil denjenigen energieverbrauchenden Vorgängen, die für die Aufrechterhaltung des transmembranalen Potentials verantwortlich sind (Nemoto, Klementavicius et al. 1996). Insgesamt haben Barbiturate einen erheblichen Einfluss auf den Energiestoffwechsel des ZNS, indem sie den zerebralen Funktionsstoffwechsel senken.

1.4 Eigene Aufgabenstellung

Ein suffizienter Energiestoffwechsel des Gehirns ist eine essentielle Voraussetzung für die Sicherung der Vitalfunktionen des gesamten Organismus. Bei krankhaften Veränderungen, die im Gehirn zu Substrat- u/o O₂-Mangel einhergehen, wie beispielsweise Hypoglykämie, Hypoxie und/oder Ischämie, ist die kontinuierliche Energieversorgung des Gehirns bedroht, die zwangsläufig zu neurologischen Schädigungen bis hin zum Tod führen können. Daher ist es unter therapeutischen Aspekten naheliegend, medikamentöse und nichtmedikamentöse Zugänge zu prüfen, die den zerebralen Energiebedarf reduzieren, um so die kritische Schwelle unzureichender zerebraler Energieversorgung bei krankhaften Zuständen, die mit einer Gefährdung der zerebralen Energieversorgung einhergehen, möglichst effektiv und kontrolliert zu senken. Neben der therapeutischen Hypothermie stellt das Supprimieren der Hirnaktivität durch Anästhetika/Sedativa einen essentiellen Bestandteil therapeutischer Vorgehensweise bei einschlägigen Hirnverletzungen im Erwachsenenalter dar.

Der Einsatz von Sedativa und Anästhetika ist auch im Neugeborenen- und Kleinkindalter zur Schmerzausschaltung und Verhinderung negativer Auswirkungen auf das Schmerzgedächtnis unverzichtbar. Daneben steht die Erkenntnis, dass der Einsatz von Sedativa/Anästhetika im unreifen Gehirn zu verstärktem neuronalen Zelluntergang führen kann (Istaphanous, Ward et al. 2010). Daraus resultiert für den klinischen Einsatz von Sedativa/Anästhetika im unreifen Gehirn eine besonders verantwortungsvolle ethische Abwägung. Ein bislang nicht systematisch untersuchter Aspekt der Auswirkung von Sedativa/Anästhetika im unreifen Gehirn betrifft die potenziell neuroprotektive Senkung des zerebralen Energiebedarfs.

Gegenstand dieser Arbeit war deshalb die Untersuchung des zerebralen Energiemetabolismus bei weitgehend ungestörter Signaltransduktion, gekennzeichnet durch ein kontinuierliches ECoG im Vergleich mit weitgehend supprimierter hirnelektrischer Aktivität infolge tiefer Anästhesie, gekennzeichnet durch ein Burst-Suppression-Muster im ECoG. Dabei wurden zwei Altersgruppen in die Untersuchungen einbezogen: Neugeborene Ferkel (Alter: 2-4 Tage, n=14), deren Hirnreifezustand als noch unreif charakterisiert werden kann (~25% des adulten Hirnvolumens; übereinstimmend mit dem des menschlichen Neugeborenen (Lenroot and Giedd 2006; Conrad, Dilger et al. 2012) und juvenile Ferkel (Alter: 6-8 Wochen, n=11), deren Gehirn deutlich ausgereifter

ist (~60-70% des adulten Hirnvolumens; übereinstimmend mit dem des menschlichen Kleinkindes von 3-4 Jahren (Lenroot and Giedd 2006; Conrad, Dilger et al. 2012).

Es sollten folgende Hypothesen geprüft werden:

1. Beide Altersgruppen erreichen unter einer Thiobarbital-Anästhesie im Stadium eines übereinstimmenden Burst-Suppression-Musters ein äquivalentes Energieniveau (Strukturstoffwechsel).
2. Die Reduktion des zerebralen Energiemetabolismus durch Thiobarbital-Anästhesie ist bei juvenilen Ferkeln stärker ausgeprägt als in neugeborenen Ferkeln, da bei älteren Tieren aufgrund fortgeschrittener Synaptogenese und Myelinisierung ein höheres Ausmaß an Signalverarbeitung vorhanden ist.
3. Tiefe Anästhesie hat somit bei neugeborenen Ferkeln eine weniger ausgeprägte neuroprotektive Relevanz.

Zur Überprüfung dieser Hypothesen wurde bei beiden Altersgruppen der zerebralen oxidativen Metabolismus jeweils unter milder Sedierung (Isofluran 0,25% ($N_2O:O_2 = 70:30$) bzw. bei tiefer Anästhesie (kontinuierliche Thiopental-Infusion zur Einstellung und Aufrechterhaltung des Stadium übereinstimmender Burst-Suppression-Muster im ECoG) untersucht. Dazu wurden die Hirndurchblutung (Farbmikrosphären-Methode), der globale zerebrale O_2 - und Glukoseumsatz sowie der regionale zerebrale Glukosemetabolismus (Positronen-Emissionstomographie) ermittelt. Daneben erfolgten die fortlaufende Bestimmung wichtiger metabolischer und kardiovaskulärer Parameter sowie die fortlaufende Ableitung eines EcoG zur Bestimmung der Hirnaktivität und Verifizierung der Anästhesietiefe.

Die Wahl der Versuchstierspezies (Ferkel) resultiert aus den weitgehenden anatomischen und physiologischen Ähnlichkeiten bei der Hirnentwicklung zwischen Mensch und Schwein, sodass sich die Spezies Schwein für translationale Forschung in dieser Entwicklungsperiode besonders anbietet (Pond, Boleman et al. 2000; Lind, Moustgaard et al. 2007), und damit ein hohes Maß an Übertragbarkeit gewährleistet ist (Dickerson and Dobbing 1967; Thibault and Margulies 1998).

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Insgesamt wurden 14 neugeborene (NG) und 11 juvenile (Juv) Ferkel der Kreuzung Deutsches Land- und Edelschwein/Pietrain (50:50) weiblichen Geschlechts untersucht. Das Lebensalter der NG Tiere lag zwischen 2 - 4 Tagen, und das mittlere Körpergewicht betrug $2,13 \pm 0,29$ kg. Die Juv Ferkel waren 48 ± 3 Tage alt und hatten ein mittleres Körpergewicht von $13,64 \pm 1,38$ kg.

Der Transport der neugeborenen Tiere zum Versuchslabor erfolgte ohne Prämedikation in einem thermostatierten Transportinkubator, der der älteren Schweine in einer normal temperierten Transportkiste nach Prämedikation mit Midazolam (1 mg/kg, i.m.).

Für alle chirurgischen und experimentellen Eingriffe lag die Genehmigung der sächsischen Tierschutzkommission vor.

2.2 Versuchsvorbereitungen

Zu Versuchsbeginn wurden die Tiere mit einer 2,5% Isofluran - Lachgasnarkose (Gasmisch N₂O:O₂ = 60:40), die über Maske eingeleitet wurde, anästhesiert. Während der chirurgischen Vorbereitungen wurde die Narkose mit 1,3% Isofluran aufrechterhalten. Zusätzlich wurden zur Schmerzreduktion alle Stellen, an denen Hautschnitte durchgeführt wurden, mit 1%igem Lidocain infiltriert.

Nach anfänglicher Maskenbeatmung wurde eine Tracheotomie durchgeführt und ein Trachealtubus entsprechender Größe eingesetzt. Anschließend wurde ein Muskelrelaxanz (Pancuroniumbromid 0,2 mg/kg/h) fortlaufend gegeben und volumenkontrolliert beatmet (mit einem positiven inspiratorischen Druck von 15 – 20 mbar und einem positiven endexpiratorischen Druck von 2 – 4 mbar; Servo Ventilator 900C, Siemens - Elema, Solona, Schweden). Ziel war die Aufrechterhaltung normoxischer/normokapnischer Bedingungen (arterieller pO₂ :100-130 mmHg; pCO₂ : 35-40 mmHg). Dies wurde intermittierend durch Blutgaskontrollen verifiziert. Das EKG wurde mit 3 intrakutanen Nadeleinstichelektroden aufgezeichnet (linke Schulter, rechter und linker Hinterlauf) und damit die Herzfrequenz (HF) fortlaufend bestimmt. Zur Kontrolle der Körpertemperatur erhielten die Tiere jeweils eine rektale Temperatursonde. Eine Rotlichtlampe diente der

Aufrechterhaltung einer Körpertemperatur von $38,0 \pm 0,2$ °C. Beidseits wurden zentralvenöse Katheter (Ø 1,4 mm) über einen Ast der Vena jugularis externa eingebracht, und dienten zum Volumenersatz mit heparinisierten (Heparin 1 IE/ml), physiologischer Kochsalzlösung (5 ml/kg KG /h) bzw. zur Applikation weiterer Pharmaka.

Im 3. Interkostalraum links wurde eine Thorakotomie durchgeführt, und ein Polyurethan-Katheter (Ø1,0 mm) in den linken Vorhof zur Applikation farbmarkierte Mikrosphären (CMS) für die Messung der regionalen Hirndurchblutung (rCBF) eingebracht.

Bei den Juv- Schweinen wurden die Aa. saphena sin./ dex., bei den NG-Ferkeln die beiden Umbilikalarterien zur Applikation arterieller Katheter (Ø 1,0 mm) genutzt. Diese waren für die fortlaufende Kontrolle des art. Blutdruckes (ABD) und der Entnahme arterieller Blutproben für Blutgasmessungen und PET-Messungen sowie die Entnahme der Referenzblutproben bei der rCBF-Mikrosphärenmessung erforderlich.

Nach Freilegen der Schädelkalotte wurden zwei Schraubenelektroden auf beiden Seiten des parietalen Cortex (Koordinaten: 10 mm rostral des Bregma, 10 mm lateral der Sutura sagittalis) eingebracht und nachfolgend ein bipolares Elektrocortikogramm (ECoG) aufgezeichnet. Über ein Bohrloch (Ø 3 mm, die Sutura sagittalis einbeziehend, 4 mm kaudal des Bregma), wurde der Sinus sagittalis superior freigelegt, punktiert und mit einem Polyurethan-Katheter (Ø 0,7 mm) versorgt, der bis zum Confluens sinuum vorgeschoben wurde. Hierüber wurde hirnvenöses (hv) Blut gewonnen.

Den Juv- Schweinen wurde 80 ml arterielles Blut abgenommen und durch 80 ml Plasmaexpander ersetzt. Das Blut wurde in heparinisierten Spritzen aufbewahrt und wurde jeweils nach Abnahme von Blutproben während des Experiments zur Substitution eingesetzt. Das Ersatzblut für NG Ferkel wurde von Spendertieren gewonnen. Die Harnblase wurde jeweils punktiert und permanent drainiert (Cystofix, Minipaed, Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Am Ende des Experiments wurde die korrekte Lage aller Katheter mittels Autopsie gesichert.

2.3 Versuchsdurchführung

Nach dem die operativen Vorbereitungen abgeschlossen waren, wurde die Narkose auf 0,25% Isofluran ($N_2O:O_2 = 70:30$) reduziert, und die Ferkel konnten sich über 1 Stunde stabilisieren. Diese Vorgehensweise einer leichten Sedierung ist für eine adäquate

Analgesie bei Ferkeln ausreichend (Bauer, Walter et al. 2004). Danach wurden unter Ausgangsbedingungen (AW) bei allen Tieren folgende physiologische Parameter erfasst: Kreislauf-Parameter (ABD, HF), aus art. und hv Blutproben: (pCO₂, pO₂, pH, Basenüberschuss (BE), Glukose-Gehalt, Laktat-Gehalt), hirnphysiologische Parameter (CBF, CMRO₂, GMR_{glc}, ECoG). Anschließend wurden die NG bzw. Juv Ferkel jeweils randomisiert folgenden Behandlungsgruppen zugeordnet: NG-Ferkel, Gruppe 1A; n=7; Beibehaltung der leichten Sedierung mit 0,25 % Isofluran in 70% N₂O/ 30% O₂ während des gesamten Experiments; Gruppe 1B; n=7; Induktion tiefer Anästhesie durch Thiopental–Infusion bis zum Auftreten eines Burst-Suppression Musters (BSM) im ECoG und nachfolgende Aufrechterhaltung durch adaptierte Dauerinfusion. Dabei wurden die Tiere mit einem Gasgemisch von 70% N₂O/ 30% O₂ beatmet. Juv-Ferkel: Gruppe 2A; n=5; Beibehaltung der leichten Sedierung mit 0,25 % Isofluran in 70% N₂O/ 30% O₂ während des gesamten Experiments; Gruppe 2B; n=6; Induktion tiefer Anästhesie durch Thiopental–Infusion bis zum Auftreten eines Burst-Suppression Musters (BSM) im ECoG und nachfolgende Aufrechterhaltung durch adaptierte Dauerinfusion. Dabei wurden die Tiere mit einem Gasgemisch von 70% N₂O/ 30% O₂ beatmet.

Zehn Minuten nach weiterer Überwachung bei leichter Sedierung (Gruppen 1A & 2A) bzw. dem Auftreten von BSM bei Tieren der Gruppen 1B & 2B wurde eine zweite Serie von Messungen der oben aufgeführten physiologischen Parameter durchgeführt (PRÄ – PET). 15 Minuten später wurde 18-Fluorodeoxyglukose (¹⁸ FDG; 50-350 MBq) über die obere Hohlvene bei allen Tieren infundiert und die Messung der regionalen CMR_{glc} mittels PET (FDG-PET) gestartet. Weitere 50 Minuten später wurde eine dritte Messserie der oben aufgeführten physiologischen Parameter durchgeführt (PET).

Nach Abschluss der FDG-PET Messung wurden die Tiere in tiefer Narkose durch intravenöse Verabreichung von gesättigter Kaliumchloridlösung (2-3ml / kg KG) getötet.

2.4 Durchführung der Analysen und Messungen

2.4.1 Allgemeine Analysen

Zur Aufzeichnung der physiologischen Größen wurde ein Vielkanal– Polygraph (Gould Electronics GmbH, Dietzenbach, Deutschland) verwendet. Das bipolare ECoG wurde verstärkt, gefiltert (Zeitkonstante 0,3 Sekunden, obere Grenzfrequenz 70 Hz), online einem

PC mit 16 – Kanal – A/D – Wandler (Data Translation, DT2821F, Marlboro, MA) zugeführt und auf Festplatte gespeichert, um die Daten offline analysieren zu können (Abtaste 125 Hz, Auflösung von 0,18 μV).

Das ECoG wurde fortlaufend überwacht und jeweils zu den angegebenen drei Messzeitpunkten (AW, PRÄ – PET, PET) über jeweils fünf Minuten durch Spektralanalyse (Fast Fourier Transformation) quantifiziert. Dazu wurden in üblicher Weise die Bandleistung in fünf Frequenzbereichen quantifiziert: Gesamtes Frequenzband (1-20 Hz); delta-Band; (1-4 Hz); Theta-Band (4-8 Hz); Alpha-Band (8-13 Hz) und Beta-Band (13-20 Hz). Der Burst –Suppression-Verhältnis-Index (BS-Index) wurde berechnet, um das Ausmaß der Thiopental-induzierten Suppression des ECoG zu quantifizieren. Dazu wurden Epochen >240 ms ermittelt, in denen die ECoG-Amplitude < 5% der während leichter Sedierung (AW) gemessenen ECoG-Amplitude betrug. Der BS-Index wurde aus dem Verhältnis: Dauer der ECoG-Suppression zur entsprechenden Gesamtdauer des jeweiligen Analyseabschnitts berechnet (Rampil, Weiskopf et al. 1988).

Der ABP wurde während des Experiments kontinuierlich aufgezeichnet und gespeichert. Die Blut – pH-, pCO₂- und pO₂- Bestimmung erfolgte mit dem Blutgasanalysegerät ABL 50 R (Radiometer, Kopenhagen, Dänemark). Der arterielle Sauerstoffgehalt wurde mittels Hämoxymeter (OSM3, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) und die Glukose- und Laktatkonzentration mit einem Elektrolyt-, Metabolit – Analysegerät (EML 105®, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) bestimmt. Aus den ermittelten Werten wurden die arterio-hirnvenösen Differenzen (avD) für Glukose, Laktat und O₂ Gehalt berechnet.

2.4.2 Regionale Durchblutungsmessung mittels Farbmikrosphären

Für die Messung der regionalen Hirndurchblutung wurde die Farbmikrosphären-Methode verwendet. Dazu wurden aus Polystyrene bestehende und mit jeweils einer der fünf Farben (weiß, gelb, rot, violett oder blau) beschichteten Mikrosphären ($\varnothing 15,5 \pm 0,33 \mu\text{m}$; Dye-Trak®, Triton Technology, San Diego, USA) verwendet. Es wurde bei jeder der drei Messungen jeweils eine Suspension markierter Mikrosphären mit einer der fünf Farben in den linken Vorhof injiziert (NG-Ferkel: 900.000 – 1,2 Mio, Juv-Schweinen: ca. 2,1 Mio.). Um eine Aggregation zu verhindern, wurden die Mikrosphären vor Applikation mindestens 2 min in einem Ultraschallbad (Transonic 460/ H, Singen, Deutschland) suspendiert. Danach wurden sie luftblasenfrei in eine Injektionsspritze aspiriert, und nach

erfolgter Injektion wurden die Spritze sowie der linksatriale Katheter mit ca. 2 ml NaCl-Lösung gespült.

Simultan dazu wurde aus der Bauchorta eine Referenzblutprobe gewonnen. Dazu wurde 15 s vor Applikation der Mikrosphären mit der Entnahme der arteriellen Blutprobe, mittels Schrittmotor – betriebener Infusions-/Saugpumpe (syringe pump SP 210iw, World Precision Instruments Inc, Sarasota, FL, U.S.A.), begonnen und über eine Dauer von 2 min aspiriert. Die Absauggeschwindigkeit betrug bei NG-Ferkeln 1,5 ml/min und bei Juv-Ferkel 3,53 ml/min.

Bei Versuchsende wurden die Gehirne entnommen und die erforderlichen Hirnregionen präpariert. Nachfolgend wurden die Gewebeproben (zwischen 0,5 – 2,5 g) und die Referenzblutproben mit einer geeigneten Menge (ca. 3 ml/g) an Verdauungslösung (4 N KOH mit 4% Tween 80 in deionisierten Wasser) versetzt. In einem vorgewärmten Wasserbad wurden die Proben dann für mindestens 4 Stunden bei 60°C verdaut. Um die farbmarkierten Mikrosphären zurückzugewinnen, erfolgte eine Filtration der verflüssigten Proben über einen Polyester-Membran-Filter (Fa. Costar, Tübingen, Deutschland, Porengröße 8 µm) unter Vakuumabsaugung. Anschließend wurden die Membranen sorgfältig mit 1% Tween 80 und 70%igem Äthylalkohol gespült. Durch Zugabe von 150 µl N-Dimethylformamid löste sich der Farbstoff von den Mikrosphären, dessen Konzentration nachfolgend mit einem Dioden-Spektrophotometer (Modell 7500, Beckmann Instruments, Fullerton, USA) bestimmt wurde. Die Auswertung der erhaltenen Daten erfolgte mit Hilfe der Miss®-Software (Triton Technology, San Diego, USA). Unter Nutzung der verschiedenen Absorptionsbereiche der einzelnen Farbstoffe, konnte die Anzahl der Mikrosphären berechnet werden. Alle Referenzblutproben sowie Gewebeproben enthielten > 400 Mikrosphären.

Die absoluten Perfusionswerte im Gehirn wurden mit folgender Formel ermittelt:

$$\text{Durchblutung}_{(\text{Gewebe})} = \frac{\text{Mikrosphären-Anzahl}_{(\text{Gewebe})} * \text{Durchblutung}_{(\text{Referenzprobe})}}{\text{Mikrosphären-Anzahl}_{(\text{Referenzprobe})}}$$

Die Durchblutung wurde dann auf Probengewicht bezogen angegeben [ml/100g/min].

Der Sinus sagittalis superior drainiert den zerebralen Cortex, die zerebrale weiße Substanz, Teile des Thalamus und Hippocampus und die Stammganglien, die zum Vorderhirn zusammengefasst werden können (Coyle, Oh et al. 1993). Deshalb wurden die daraus

gewonnenen Blutproben und deren Messwerte zur Kalkulation von zerebralem Glukose- (CMR_{glc}) und Sauerstoffumsatz ($CMRO_2$) des Vorderhirns verwendet.

$$CMRO_2 = CBF_{(Vorderhirn)} * avDO_{2(Vorderhirn)}$$

$$CMR_{glc} = CBF_{(Vorderhirn)} * avD_{glc(Vorderhirn)}$$

Die dabei berechneten individuellen Werte der CMR_{glc} wurden für die Bestimmung einer individuellen „lumped constant“ (LC) genutzt, die für die Umrechnung des Netto-Influx von FDG in CMR_{glc} erforderlich ist.

2.4.3 Messung der regionalen zerebralen Glukoseumsatzrate ($rCMR_{glc}$) mittels Positronen - Emissions - Tomographie (FDG-PET)

Die Tiere wurden liegend in einem PET-Scanner (CTI/Siemens ECAT EXACT Hr^+) untersucht. Das ^{18}F FDG wurde innerhalb von 60 s in die obere Hohlvene infundiert. Unmittelbar danach wurde der Katheter mit einer heparinisierten isotonen Kochsalzlösung (1IE Heparin/ml) gespült. Mit dem Start der ^{18}F FDG-Infusion begann die dynamische Emissionsmessung, die aus der Erfassung von 35 zunehmend länger werdenden Messintervallen (30 bis 600 Sek. Dauer) über eine Gesamtdauer von 60 min bestand. Parallel dazu wurden 52 arterielle Blutproben in Intervallen zwischen 15 s und 300 s gewonnen, gekühlt und zentrifugiert um das Plasma zu extrahieren. Die Plasma-Aktivität (CP, 100 μ l) wurde in einem Gamma-Counter (COBRA II) gemessen, der zur Bestimmung der Input-Kurve, mit dem PET-Scanner kreuzkalibriert war.

EXACT Hr^+ hat eine transaxiale Bildauflösung von 4-5 mm (Brix, Doll et al. 1997), wenn die Bilder mittels gefilterter Rückprojektion mit einem Hanning-Filter (obere Grenzfrequenz 0,5) rekonstruiert werden. Zur Korrektur von Schwächung und Streustrahlung wurden Transmissionsmessungen mit drei rotierenden ^{86}Ga -Stabquellen verwendet.

Die Bestimmung der regionalen zerebralen Glukoseumsatzrate ($rCMR_{glc}$) erfolgte für folgende Regionen (Regions of interests, ROIs): zerebraler Cortex, Basalganglien, Thalamus, Hippocampus, Mittelhirn und Kleinhirn. Dies geschah unter Zuhilfenahme von entsprechend angepassten Referenzbildern aus T1-gewichteten MRT-Untersuchungen von gleichalten Ferkeln (Brust, Zessin et al. 2003). Die ROIs des Mittelhirns wurde als Einzelregion festgelegt, die ROIs der übrigen Hirnregionen wurden zunächst separat in

beiden Hemisphären festgelegt und nachfolgend zusammengefasst und als Aktivität im interessierenden Volumen ausgedrückt.

In allen untersuchten Gruppen wurden nachfolgend die kinetischen Parameter aus den ermittelten Gewebsaktivitäten und Aktivitäten der arteriellen Blutplasma-proben durch Standard-Last-Square-Analyse ermittelt. Ein Standard-Drei-Parameter-Tracer-Kinetik-Modell mit zusätzlicher Berücksichtigung des Gefäß-Kompartiments wurde angewendet. Aus den 60-min dynamischen Messfolgen wurden 4 Parameter berechnet: die zerebrale Blutvolumenfraktion (CBV), k_1 , k_2 und k_3 . Mittels dieser Parameter wurde dann die $rCMR_{glc}$ für die oben genannten Hirnregionen folgendermaßen berechnet:

$rCMR_{glc} = CP / LC * (k_1 * k_3) / (k_2 + k_3)$. Die Bestimmungen der LC (NG-Ferkel: $0,34 \pm 0,07$, Juv-Ferkel: $0,39 \pm 0,09$) war nicht signifikant different und entspricht publizierten Daten für neugeborene Schafe (LC 0,4) (Thorngren-Jerneck, Ley et al. 2001).

2.5 Statistische Analyse

Die Angabe aller Ergebnisse erfolgte jeweils als Mittelwert \pm SD (Standardabweichung). Zu Beginn wurden alle betrachteten Parameter mit Hilfe der zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) verglichen. Die „Behandlung“ war ein Faktor, der mögliche Effekte der Thiopental-Verabreichung betrachtete. Der zweite Faktor war das „Alter“, bei dem die Altersunterschiede der neugeborenen und jugendlichen Schweine betrachtet wurden. Da in einigen Fällen eine Wechselwirkung zwischen den beiden Faktoren eintrat, erfolgte die nachfolgende Prüfstatistik mit einfaktorieller ANOVA mit Messwiederholung innerhalb jeder Gruppe. Post-hoc-Vergleiche wurden mit dem Holm-Sidak-Test durchgeführt. Vergleiche zwischen verschiedenen Gruppen wurden mittels ungepaarten T-Test unter Verwendung der Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Unterschiede wurden als statistisch signifikant angesehen, wenn eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ nachgewiesen wurde.

3 Ergebnisse

3.1 Auswirkungen auf physiologische Parameter

3.1.1 Kreislaufparameter

Wie aus der Tabelle 1 ersichtlich, war der arterielle Blutdruck bei den untersuchten Tiergruppen übereinstimmend und auch bei tiefer Thiopental-Anästhesie stabil.

Tabelle 1: Auswirkungen einer zu tiefer, hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) führenden Thiopental-Infusion auf Kreislaufparameter

Messzeitpunkt	Ausgangswert	Prä-PET	PET
arterieller Blutdruck (mm Hg)			
Gruppe 1A	79 ± 11 [§]	82 ± 11	87 ± 14*
Gruppe 1B	82 ± 13 [§]	77 ± 8	75 ± 10
Gruppe 2A	92 ± 9	92 ± 10	98 ± 13
Gruppe 2B	95 ± 11	91 ± 9	88 ± 10
Herzfrequenz (min⁻¹)			
Gruppe 1A	231 ± 27 [§]	238 ± 34	258 ± 31
Gruppe 1B	222 ± 33 [§]	179 ± 23 *	176 ± 32 *
Gruppe 2A	155 ± 32	157 ± 36	154 ± 45
Gruppe 2B	165 ± 21	136 ± 10	124 ± 19

(Daten werden präsentiert als Mittelwert (MW) ± Standardabweichung (SD). Ausgangswert: vor Beginn der Thiopental – Infusion in den Gruppen 1B & 2B; Prä-PET: 10 min nach BS-Beginn und vor PET-Messung; PET: 50. min der PET-Messung; Gruppe 1A: NG-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=7; Gruppe 1B: NG-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=7; Gruppe 2A: Juv-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=5; Gruppe 2B: Juv-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=6; *^{§#} p < 0,05; * signifikante Unterschiede beim Vergleich innerhalb der jeweiligen Untersuchungsgruppe bezogen auf den Ausgangswert; # signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Altersgruppe beim Vergleich von leichter Isofluran-Sedierung und tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt, [§] signifikante Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppe mit gleicher Behandlung zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.)

Die Herzfrequenz der neugeborenen Tiere ist unter Ausgangsbedingungen deutlich höher als bei juvenilen Tieren (p < 0,05, Tab. 1). Die Altersunterschiede bleiben bei den verschiedenen Versuchsbedingungen bestehen (Tab.1). Bei den mit Thiopental behandelten Gruppen beider Altersklassen (1B/2B) sind deutliche Reduktionen der Herzfrequenz zum Ausgangswert durch eine tiefe Anästhesie zu beiden Messzeitpunkten (Prä-PET/PET) erkennbar (Tab.1). Dabei war bei neugeborenen Ferkeln die Herzfrequenz unter Barbiturateinwirkung um bis zu 32%, bei den jugendlichen Tieren um ca. 20% reduziert.

3.1.2 Arterielle Blutgas-, Säure/ Basen- und metabolische Parameter

Tabelle 2: Auswirkungen einer zu tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) führenden Thiopental-Infusion auf arterielle Blutgas-, Säure/ Basen- und metabolische Parameter

Messzeitpunkt	Ausgangswert	Prä-PET	PET
arterieller pCO₂ (mm Hg)			
Gruppe 1A	37 ± 1	37 ± 3	38 ± 3
Gruppe 1B	38 ± 3	40 ± 4	38 ± 3
Gruppe 2A	36 ± 2	36 ± 2	36 ± 1
Gruppe 2B	36 ± 1	37 ± 3	37 ± 3
arterieller pH			
Gruppe 1A	7,45 ± 0,02	7,45 ± 0,03	7,45 ± 0,03
Gruppe 1B	7,45 ± 0,06	7,45 ± 0,06	7,47 ± 0,04
Gruppe 2A	7,48 ± 0,04	7,48 ± 0,04	7,46 ± 0,04
Gruppe 2B	7,45 ± 0,03	7,46 ± 0,04	7,45 ± 0,04
arterieller pO₂ (mm Hg)			
Gruppe 1A	116 ± 11	118 ± 17	113 ± 26
Gruppe 1B	118 ± 10	124 ± 16	120 ± 15
Gruppe 2A	139 ± 19	135 ± 11	137 ± 15
Gruppe 2B	123 ± 16	125 ± 37	131 ± 36
arterieller O₂ -Gehalt (Vol%)			
Gruppe 1A	12 ± 1 ^{\$}	12 ± 1	12 ± 1
Gruppe 1B	13 ± 2 ^{\$}	13 ± 2	13 ± 2
Gruppe 2A	15 ± 1	15 ± 1	15 ± 1
Gruppe 2B	15 ± 2	15 ± 2	15 ± 2
arterieller Glukosegehalt (mmol/l)			
Gruppe 1A	6,3 ± 1,2 ^{\$}	6,2 ± 1,2	6,2 ± 1,3
Gruppe 1B	7,2 ± 1,3 ^{\$}	7,0 ± 1,8	6,0 ± 1,8 *
Gruppe 2A	7,9 ± 1,2	8,0 ± 1,3	9,0 ± 2,3
Gruppe 2B	8,1 ± 1,2	8,0 ± 1,2	7,2 ± 0,8
arterieller Laktatgehalt (mmol/l)			
Gruppe 1A	2,1 ± 0,8	2,1 ± 0,8	2,0 ± 0,7
Gruppe 1B	2,2 ± 1,0 ^{\$}	2,3 ± 1,0	2,3 ± 0,7
Gruppe 2A	1,0 ± 0,3	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,2
Gruppe 2B	1,2 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,1 ± 0,8

(Daten dargestellt als MW ± SD. Ausgangswert: vor Beginn der Thiopental – Infusion in den Gruppen 1B & 2B; Prä-PET: 10 min nach BS-Beginn und vor PET-Messung; PET: 50. min der PET-Messung; Gruppe 1A: NG-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=7; Gruppe 1B: NG-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=7; Gruppe 2A: Juv-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=5; Gruppe 2B: Juv-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=6; *^{\$} p < 0,05; * signifikante Unterschiede beim Vergleich innerhalb der jeweiligen Untersuchungsgruppe bezogen auf den Ausgangswert; [#] signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Altersgruppe beim Vergleich von leichter Isofluran-Sedierung und tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt, ^{\$} signifikante Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppe mit gleicher Behandlung zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.)

Die Ausgangswerte der arteriellen Blutgas- und Säure/ Basen- Parameter unterschieden sich nur geringfügig zwischen den Gruppen und waren innerhalb physiologischer Grenzen. Weder eine anhaltende leichte Sedierung, noch eine tiefe Anästhesie bewirkten signifikante Veränderungen der Parameter. Jedoch war bei neugeborenen Ferkeln bei leichter Sedierung der arterielle O_2 -Gehalt im Vergleich zu juvenilen Ferkeln erniedrigt ($p < 0,05$, Tab.2). Beim arteriellen Glukosegehalt war ein relevanter Altersunterschied nachweisbar ($p < 0,05$, Tab.2). Unter einer tiefen Anästhesie mit Thiopental sank der arterielle Glukosegehalt tendenziell in beiden Altersgruppen. Die arteriellen Blutlaktatwerte der neugeborenen Schweine waren im Mittel etwa doppelt so hoch als bei jugendlichen Tieren. Signifikante Unterschiede ergaben sich aufgrund der vorliegenden Streuungen der Messwerte jedoch nur beim Vergleich der Gruppe 1B unter leichter Isofluran-Sedierung ($p < 0,05$, Tab.2). Im Verlauf des Experimentes blieben die Wert in beiden Populationen und unabhängig von der Behandlungsart stabil.

3.1.3 Hirnvenöse Blutgas-, Säure/ Basen- und metabolische Parameter

Der hv O_2 -Gehalt und die av Differenz des O_2 -Gehaltes wiesen bei leichter Sedierung keine Unterschiede zwischen den NG- und Juv-Ferkeln auf. Demgegenüber waren der venöse O_2 -Gehalt im Gehirn bei beiden Altersgruppen unter einer tiefen Anästhesie durch Thiopental erniedrigt und die av Differenz des O_2 -Gehaltes erhöht, erreichten jedoch nur in der Gruppe der Juv-Ferkel (2B) das Signifikanzniveau ($p < 0,05$, Tab. 3).

Wie auch der arterielle Glukosegehalt steigt der hirnvenöse Glukosegehalt tendenziell mit dem Alter an. Ein signifikanter Alterseinfluss ließ sich jedoch zu keinem Zeitpunkt nachweisen. Eine Reduktion des hirnvenösen Glukosegehaltes zeigte sich hingegen in beiden Altersgruppen unter der Behandlung mit Thiopental, ($p < 0,05$).

Der hirnvenöse Laktatgehalt war bei NG-Ferkel etwa doppelt so hoch wie bei Juv-Ferkeln. Während sich bei den Juv-Ferkeln weder unter einer leichten noch einer tiefen Anästhesie signifikante Veränderungen ergaben, sank der Laktatgehalt bei neugeborenen Tieren (1A/B) sowohl unter der Isofluran- als auch der Thiopentalbehandlung im Zeitverlauf ab.

Die arteriovenöse Glukose- und Laktatdifferenzen waren unter den vorgegebenen Versuchsbedingungen unverändert.

Tabelle 3: Auswirkungen einer zu tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) führenden Thiopental-Infusion auf hirnvenöse Blutgas-, Säure/ Basen- und metabolische Parameter

Messzeitpunkt	Ausgangswert	Prä-PET	PET
hirnvenöser O₂ -Gehalt (Vol%)			
Gruppe 1A	6,1 ± 1,1	5,7 ± 1,0	5,6 ± 1,9
Gruppe 1B	6,2 ± 1,6	5,3 ± 1,5	4,9 ± 1,7
Gruppe 2A	6,9 ± 1,4	6,9 ± 0,9	7,1 ± 1,3
Gruppe 2B	7,3 ± 0,7	5,2 ± 1,0 *	5,7 ± 1,7 *
AVD_{O₂} (Vol%)			
Gruppe 1A	6,0 ± 0,6	6,4 ± 0,4	6,7 ± 1,1
Gruppe 1B	6,4 ± 1,5	7,5 ± 2,0	7,9 ± 2,3
Gruppe 2A	8,1 ± 1,5	7,8 ± 1,2	7,5 ± 1,3
Gruppe 2B	7,7 ± 1,5	9,5 ± 1,3 *	9,4 ± 1,3 *
hirnvenöser Glukose-Gehalt (mmol/l)			
Gruppe 1A	5,8 ± 1,2	5,7 ± 1,2	5,7 ± 1,3
Gruppe 1B	6,7 ± 1,4	6,3 ± 1,9	5,3 ± 1,9 *
Gruppe 2A	7,2 ± 1,1	7,2 ± 1,1	8,3 ± 2,3
Gruppe 2B	7,2 ± 1,3	7,2 ± 1,2	6,4 ± 0,9 *
AVD_{Glukose} (mmol/l)			
Gruppe 1A	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Gruppe 1B	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,3
Gruppe 2A	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2
Gruppe 2B	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2
hirnvenöser Laktat-Gehalt (mmol/l)			
Gruppe 1A	2,5 ± 1,2 [§]	2,4 ± 1,1 *	2,2 ± 0,8 *
Gruppe 1B	2,4 ± 1,0	2,4 ± 0,9	2,3 ± 0,7 *
Gruppe 2A	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,2
Gruppe 2B	1,2 ± 0,3	1,4 ± 0,3	1,2 ± 0,8
AVD_{Laktat} (mmol/l)			
Gruppe 1A	-0,4 ± 0,6	-0,3 ± 0,4	-0,2 ± 0,1
Gruppe 1B	-0,2 ± 0,2	-0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,2
Gruppe 2A	-0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,1	-0,1 ± 0,1
Gruppe 2B	0,0 ± 0,1	-0,1 ± 0,1	-0,1 ± 0,1

(Daten dargestellt als MW ± SD.. Ausgangswert: vor Beginn der Thiopental – Infusion in den Gruppen 1B & 2B; Prä-PET: 10 min nach BS-Beginn und vor PET-Messung; PET: 50. min der PET-Messung; Gruppe 1A: NG-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=7; Gruppe 1B: NG-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=7; Gruppe 2A: Juv-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=5; Gruppe 2B: Juv-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=6; * p < 0,05; * signifikante Unterschiede beim Vergleich innerhalb der jeweiligen Untersuchungsgruppe bezogen auf den Ausgangswert.)

3.2 Auswirkungen auf hirnelektrische Parameter

Tabelle 4: Auswirkungen einer zu tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) führenden Thiopental-Infusion auf hirnelektrische Parameter

Messzeitpunkt	Ausgangswert	Prä-PET	PET
Gesamtleistung (μV^2 Hz-1)			
Gruppe 1A	32 \pm 12	32 \pm 13	30 \pm 12
Gruppe 1B	30 \pm 10	10 \pm 9 * [#]	12 \pm 11 *
Gruppe 2A	44 \pm 5	46 \pm 5	37 \pm 10
Gruppe 2B	49 \pm 13	10 \pm 5 * [#]	15 \pm 8 * [#]
ECoG Bandleistung -delta-Band (μV^2 Hz-1)			
Gruppe 1A	13,6 \pm 6,7	13,5 \pm 7,2	12,9 \pm 7,0
Gruppe 1B	12,2 \pm 7,2	6,3 \pm 6,8*	6,0 \pm 6,1*
Gruppe 2A	10,3 \pm 0,9	11,8 \pm 4,9	8,6 \pm 2,1
Gruppe 2B	11,4 \pm 0,9	2,4 \pm 2,5 * [#]	6,2 \pm 2,1 *
ECoG Bandleistung - theta -Band (μV^2 Hz-1)			
Gruppe 1A	6,8 \pm 3,2	8,0 \pm 3,4	7,7 \pm 2,7
Gruppe 1B	7,5 \pm 2,5	2,5 \pm 1,7 * [#]	3,6 \pm 3,4 *
Gruppe 2A	7,1 \pm 1,4	7,6 \pm 2,3	6,2 \pm 2,6
Gruppe 2B	7,5 \pm 2,1	3,1 \pm 1,5 * [#]	4,6 \pm 2,6 *
ECoG Bandleistung - alpha -Band (μV^2 Hz-1)			
Gruppe 1A	4,4 \pm 2,2 [§]	4,9 \pm 2,0 [§]	4,8 \pm 1,6
Gruppe 1B	5,0 \pm 2,0 [§]	1,0 \pm 0,8 * [#]	1,7 \pm 1,5 * [#]
Gruppe 2A	13,5 \pm 4,4	12,7 \pm 4,0	9,8 \pm 4,4
Gruppe 2B	17,3 \pm 7,9	2,7 \pm 1,5 * [#]	3,0 \pm 2,2 * [#]
ECoG Bandleistung - beta -Band (μV^2 Hz-1)			
Gruppe 1A	6,8 \pm 1,9	5,5 \pm 2,5	4,9 \pm 2,3
Gruppe 1B	5,4 \pm 2,0 [§]	0,5 \pm 0,4 * [#]	1,0 \pm 0,9 * [#]
Gruppe 2A	13,2 \pm 5,0	13,8 \pm 5,9	12,4 \pm 6,1
Gruppe 2B	13,0 \pm 4,7	1,7 \pm 1,0 * [#]	1,6 \pm 1,2 * [#]
ECoG Power_ratio			
Gruppe 1A	0,7 \pm 0,5 [§]	0,5 \pm 0,2 [§]	0,5 \pm 0,1 [§]
Gruppe 1B	0,6 \pm 0,2 [§]	0,2 \pm 0,1 * [#]	0,3 \pm 0,1 *
Gruppe 2A	1,5 \pm 0,2	1,5 \pm 0,5	1,7 \pm 0,6
Gruppe 2B	1,6 \pm 0,5	0,9 \pm 0,6 *	0,4 \pm 0,1 * [#]
Burst suppression ratio Index			
Gruppe 1A	0,90 \pm 0,01	0,91 \pm 0,01	0,92 \pm 0,01
Gruppe 1B	0,92 \pm 0,02	0,60 \pm 0,11 * [#]	0,61 \pm 0,11 * [#]
Gruppe 2A	0,91 \pm 0,01	0,90 \pm 0,01	0,91 \pm 0,01
Gruppe 2B	0,91 \pm 0,02	0,64 \pm 0,08 * [#]	0,66 \pm 0,09 * [#]

(Daten dargestellt als MW \pm SD. Ausgangswert: vor Beginn der Thiopental – Infusion in den Gruppen 1B & 2B; Prä-PET: 10 min nach BS-Beginn und vor PET-Messung; PET: 50. min der PET-Messung; Gruppe 1A: NG-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=7; Gruppe 1B: NG-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=7; Gruppe 2A: Juv-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=5; Gruppe 2B: Juv-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=6; *^{§#} p < 0,05; * signifikante Unterschiede beim Vergleich innerhalb der jeweiligen Untersuchungsgruppe bezogen auf den Ausgangswert; # signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Altersgruppe beim Vergleich von leichter Isofluran-Sedierung und tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt, § signifikante Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppe mit gleicher Behandlung zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.)

Die hirnelektrische Aktivität im Frequenzbereich zwischen 1 und 20 Hz (Gesamtleistung) ist in beiden Altersgruppen vergleichbar ausgeprägt, tendenziell ist die Gesamtleistung bei den Juv-Ferkeln höher, erreicht jedoch zu keinem Messzeitpunkt das Signifikanzniveau. Dieser Befund war bei milder Sedierung über den gesamten Untersuchungszeitraum unverändert. Hingegen kommt es in beiden Altersgruppen zu einer signifikanten Reduktion der Gesamtleistung unter einer Behandlung mit Thiopental, sowohl im Vergleich zum Ausgangswert der untersuchten Gruppe als auch im Vergleich zur Kontrollgruppe zum gleichen Messzeitpunkt ($p < 0,05$, Tab. 4).

Für das Auftreten langsamer Hirnaktivitäten im Frequenzbereich von 1-8 Hz (Delta- und Thetaband) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen NG- und Juv-Ferkeln bei leichter Isofluran-Sedierung nachgewiesen werden. Hingegen ließen sich bei tiefer Anästhesie mit Thiopental im Vergleich zu den jeweiligen Ausgangswerten in beiden Altersgruppen deutliche Reduktionen der Delta- und Thetaaktivitäten verifizieren. Beim direkten Vergleich der beiden Bandleistungen zwischen leichter und tiefer Anästhesie zum gleichen Messzeitpunkt sind ebenfalls deutliche Reduktionen in den mit Thiopental behandelten Gruppen nachweisbar ($p < 0,05$, Tab. 4). Für die Deltaaktivität ergab sich allerdings nur zwischen den Gruppen der Juv-Ferkel zum Messzeitpunkt Prä-PET ein Unterschied mit $p < 0,05$. Für die Thetaaktivität konnte in beiden Altersgruppen, zum Messzeitpunkt Prä-PET eine signifikante Verminderung in tiefer Anästhesie, im Vergleich zur leichten Sedierung festgestellt werden ($p < 0,05$), während zum letzten Messzeitpunkt (PET) sich kein relevanter Unterschied zeigte.

Während des Versuchsablaufs blieben die Hirnaktivitäten des Alphabandes bei Isofluran-Sedierung in beiden Altersgruppen unverändert, während durch Thiopental eine erhebliche Reduktion der Alphaaktivität hervorgerufen wurde ($p < 0,05$, Tab. 4). Auch im Vergleich zur leichten Sedierung ergaben sich signifikant geringere Werte der Alphaaktivität unter einer Behandlung mit Thiopental zu beiden Messzeitpunkten ($p < 0,05$). Die Veränderungen des Betabandes verhielten sich weitgehend übereinstimmend wie die im Alphaband. So war ein höherer Anteil an Betaaktivität bei juvenilen Tieren zu finden. Jedoch wurde ein altersbedingter Unterschied aufgrund erheblicher Streuung nur unter Ausgangsbedingungen statistisch verifiziert ($p < 0,05$, Tab. 4). Deutliche Reduktionen der Betaaktivität ergeben sich in beiden Altersgruppen durch Thiopentalbehandlung ($p < 0,05$, Tab. 4).

Die Power Ratio als Maß für die Aktivitätsverteilung der Hirntätigkeit war bei juvenilen Ferkeln 2-3fach höher als bei neugeborenen Ferkeln ($p < 0,05$, Tab. 4). Während tiefer Anästhesie, sank die Power Ratio in beiden Altersgruppen deutlich im Vergleich zur milden Sedierung ($p < 0,05$, Tab. 4).

Der Burst-Suppression-Index (BSI) als Maß für die Sedierungstiefe ergab bei allen Tieren unter milder Sedierung Werte zwischen 0,90-0,92. Eine durch Thiopental-Infusion induzierte tiefe hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) war bei neugeborenen und juvenilen Ferkeln durch BSI-Werte zwischen 0,60-0,66 gekennzeichnet ($p < 0,05$, Tab. 4).

3.3 Auswirkungen auf die regionale Hirndurchblutung (rCBF)

In den untersuchten Hirnregionen der neugeborenen und juvenilen Schweine war eine tendenzielle Abnahme der Durchblutungsraten bei älteren Versuchstieren erkennbar. Es ließen sich jedoch zu keinem Zeitpunkt altersbedingte relevante Unterschiede der regionalen zerebralen Durchblutung verifizieren. Unter einer leichten Isofluransedierung kam es in beiden Altersgruppen und untersuchten Hirnregionen zu keinen signifikanten Reduktionen der rCBF. Im Gegensatz dazu ergaben sich in beiden Altersgruppen unterschiedlich starke Senkungen der regionalen Hirndurchblutung bei tiefer Anästhesie durch Thiopental ($p < 0,05$, Tab. 5).

Bis auf das Kleinhirn Neugeborener konnte in allen untersuchten Hirnregionen, in beiden Altersgruppen unter einer Thiopentalbehandlung, signifikante Reduktionen der regionalen Hirndurchblutung im Vergleich mit den Ausgangsbedingungen festgestellt werden ($p < 0,05$, Tab.5). Im Hippocampus war die zuvor eindeutige Verminderung der Hirndurchblutung ($p < 0,05$ Prä-PET), in beiden Altersgruppen, zum letzten Messzeitpunkt nicht mehr nachweisbar.

Beim Vergleich zwischen Kontrollgruppen mit leichter Isoflurananästhesie und Thiopental-induzierter tiefer Sedierung waren die Durchblutungsraten der mit Thiopental sedierten Tiere stark reduziert ($p < 0,05$, Tab.5). Jedoch war dies nicht in allen untersuchten Hirnabschnitten der neugeborenen Tiere bzw. zu allen Messzeitpunkten statistisch verifizierbar: Im Kleinhirn Neugeborener ergaben sich zu keinem Messzeitpunkt relevante Reduktionen der Hirndurchblutung. In Cortex und Basalganglien der Neugeborenen war die Durchblutung bei tiefer Anästhesie, im Vergleich zur Kontrollgruppe, zu beiden Messzeitpunkten signifikant niedriger, im Hippocampus und unterem Hirnstamm nur zum Zeitpunkt der 1.Messung unter Thiopentaleinfluss (Prä-PET) ($p < 0,05$, Tab.5).

Auch bei den juvenilen Tieren waren die Durchblutungsraten der Thiopental-behandelten Tiere, verglichen mit den jeweiligen Kontrollgruppen, erniedrigt. In Cortex, Basalganglien und Thalamus juveniler Schweine ergaben sich während beider Messungen deutliche Unterschiede ($p < 0,05$, Tab.5). Bei den juvenilen Tieren waren in Hippocampus und Kleinhirn zu keinem Messzeitpunkt, im unteren Hirnstamm nur zum letzten Messzeitpunkt, signifikante Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsbedingungen nachweisbar.

Tabelle 5: Auswirkungen einer zu tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) führenden Thiopental-Infusion auf die regionale Hirndurchblutung

Messzeitpunkt	Ausgangswert	Prä-PET	PET
CBF -Cortex			
Gruppe 1A	66 ± 7	64 ± 10	62 ± 15
Gruppe 1B	50 ± 15	26 ± 11 * [#]	31 ± 13 * [#]
Gruppe 2A	49 ± 13	44 ± 11	54 ± 16
Gruppe 2B	51 ± 10	25 ± 3 * [#]	25 ± 4 * [#]
CBF-Basalganglien			
Gruppe 1A	54 ± 9	51 ± 12	49 ± 10
Gruppe 1B	44 ± 14	26 ± 10 * [#]	31 ± 12 * [#]
Gruppe 2A	46 ± 10	43 ± 6	50 ± 6
Gruppe 2B	46 ± 7	22 ± 1 * [#]	24 ± 3 * [#]
CBF-Thalamus			
Gruppe 1A	72 ± 16	64 ± 15	66 ± 14
Gruppe 1B	61 ± 24	38 ± 14 *	41 ± 13 *
Gruppe 2A	49 ± 13	43 ± 12	56 ± 8
Gruppe 2B	42 ± 20	21 ± 11 * [#]	22 ± 11 * [#]
CBF-Hippocampus			
Gruppe 1A	47 ± 4	48 ± 7	40 ± 8
Gruppe 1B	37 ± 8	25 ± 7 * [#]	29 ± 8
Gruppe 2A	30 ± 5	27 ± 11	35 ± 7
Gruppe 2B	31 ± 6	19 ± 4 *	23 ± 8
CBF-Hirnstamm			
Gruppe 1A	74 ± 9	71 ± 12	67 ± 15
Gruppe 1B	56 ± 22	40 ± 18 * [#]	43 ± 17 *
Gruppe 2A	51 ± 13	39 ± 13	52 ± 8
Gruppe 2B	49 ± 10	30 ± 5 *	31 ± 5 * [#]
CBF-Kleinhirn			
Gruppe 1A	52 ± 12	46 ± 10	51 ± 13
Gruppe 1B	39 ± 13	30 ± 11	30 ± 11
Gruppe 2A	51 ± 10	49 ± 7	59 ± 9
Gruppe 2B	50 ± 6	39 ± 9 *	38 ± 5 *

(Daten dargestellt als MW ± SD. Ausgangswert: vor Beginn der Thiopental – Infusion in den Gruppen 1B & 2B; Prä-PET: 10 min nach BS-Beginn und vor PET-Messung; PET: 50. min der PET-Messung; Gruppe 1A: NG-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=7; Gruppe 1B: NG-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=7; Gruppe 2A: Juv-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung, n=5; Gruppe 2B: Juv-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS), n=6; *[#] p < 0,05; * signifikante Unterschiede beim Vergleich innerhalb der jeweiligen Untersuchungsgruppe bezogen auf den Ausgangswert; [#] signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Altersgruppe beim Vergleich von leichter Isofluran-Sedierung und tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.)

3.4 Auswirkungen auf den zerebralen Energiestoffwechsel

3.4.1 Globale Parameter des zerebralen Energiestoffwechsels

Die zerebrale Sauerstoffumsatzrate war unter einer milden Sedierung im Gehirn von neugeborenen und juvenilen Schweinen weitgehend übereinstimmend, ein Altersunterschied war nicht erkennbar (Abb.1). Durch Gabe des Barbiturates Thiopental, kam es in beiden Altersgruppen zu einer signifikanten Reduktion der globalen zerebralen Sauerstoffumsatzrate, sowohl im Vergleich zu den jeweiligen Ausgangswerten als auch im direkten Vergleich zu den Kontrollgruppen ($p < 0,05$, Abb.1).

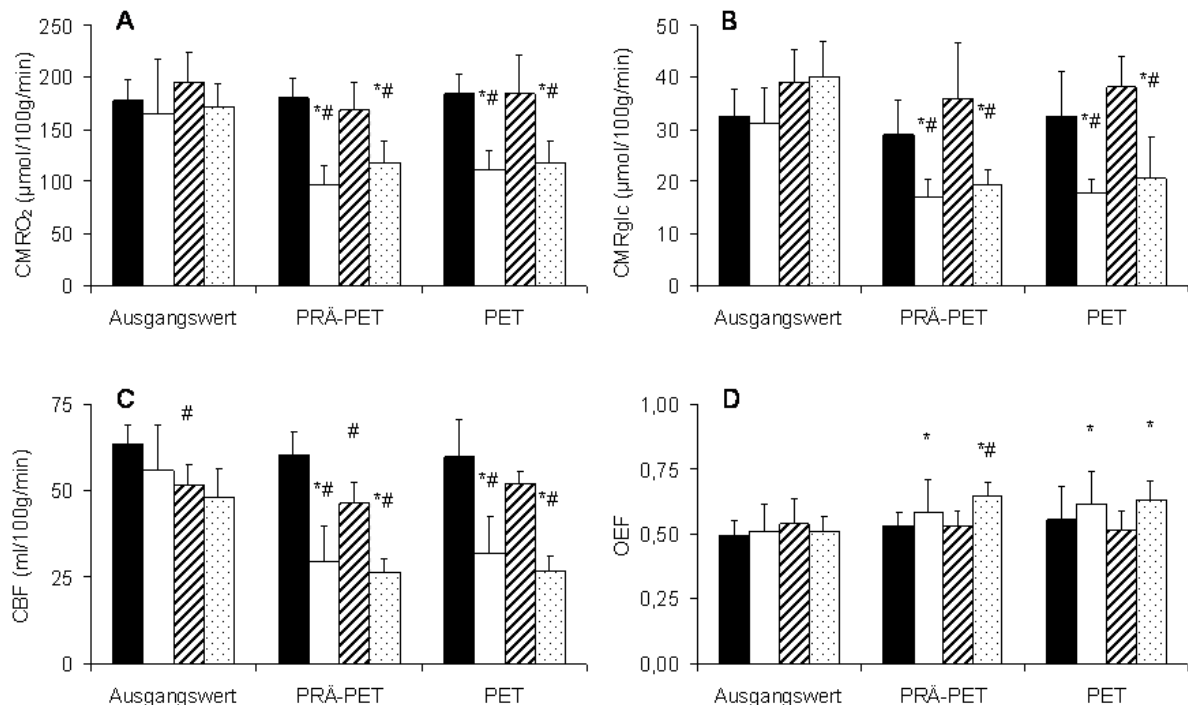


Abb. 1: Auswirkungen einer zu tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) führenden Thiopental-Infusion auf die globale Hirndurchblutung, die globale O₂ –Umsatzrate (CMRO₂), globale Glukose–Umsatzrate (CMR_{glc}) und die Sauerstoff-Extraktionsfraktion (OEF).

(Daten dargestellt als MW + SD. Ausgangswert: vor Beginn der Thiopental – Infusion in den Gruppen 1B & 2B; Prä-PET: 10 min nach BS-Beginn und vor PET-Messung; PET: 50. min der PET-Messung; Gruppe 1A: NG-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung (schwarze Säulen, n=7); Gruppe 1B: NG-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS) (weiße Säulen, n=7); Gruppe 2A: Juv-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung (schraffierte Säulen, n=5); Gruppe 2B: Juv-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS) (gepunktete Säulen, n=6); *[#] $p < 0,05$; * signifikante Unterschiede beim Vergleich innerhalb der jeweiligen Untersuchungsgruppe bezogen auf den Ausgangswert; # signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Altersgruppe beim Vergleich von leichter Isofluran-Sedierung und tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt, ; ^{\$} signifikante Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppe.)

Die zerebrale Gesamtdurchblutung sank mit steigendem Alter tendenziell ab, ein signifikanter Altersunterschied war jedoch nicht gegeben. Unter tiefer Sedierung mit Thiopental kam es in beiden Altersgruppen zu einer signifikanten Reduktion der globalen zerebralen Durchblutung, sowohl im Vergleich zu den jeweiligen Ausgangswerten als auch im direkten Vergleich zu den Kontrollgruppen ($p < 0,05$, Abb.1).

Die zerebrale Glukoseumsatzrate wies im Gehirn der juvenilen Tiere im Vergleich zum zerebralen Glukosemetabolismus der neugeborenen Tiere höhere Werte auf. Unter Thiopentaleinfluss kam es in beiden Altersgruppen zu einer signifikanten Reduktion des globalen zerebralen Glukosemetabolismus, sowohl im Vergleich zu den jeweiligen Ausgangswerten als auch im direkten Vergleich zu den Kontrollgruppen ($p < 0,05$, Abb.1).

Die zerebrale Sauerstoffextraktionsfraktion (OEF) war in allen untersuchten Gruppen unter Ausgangsbedingungen (milde Sedierung) ungefähr gleich groß. Durch die Barbituratwirkung kam es in beiden Altersgruppen zu einer Erhöhung der zerebralen Sauerstoffextraktionsfraktion. Im Vergleich zu den Ausgangswerten war diese Erhöhung in beiden Altersgruppen signifikant, im Vergleich zu den Kontrollgruppen jedoch nur bei den juvenilen Tiere zum 1.Messzeitpunkt (Prä-PET) statistisch relevant ($p < 0,05$, Abb.1).

3.4.2 Regionale Parameter des zerebralen Energiestoffwechsels

Die regionale zerebrale Glukoseumsatzrate war unter einer milden Sedierung in allen untersuchten Hirnabschnitten der juvenilen Tiere insgesamt höher als bei Neugeborenen. Die stärksten Unterschiede ergaben sich unter Ausgangsbedingungen im Bereich des Cortex und der Basalganglien ($p < 0,05$, Abb. 2). Die untersuchten anderen Regionen wiesen bei milder und tiefer Anästhesie keinen signifikanten Altersunterschied auf.

Unter dem Einfluss von Thiopental kam es in den juvenilen Gehirnen in allen untersuchten Hirnregionen zu einem signifikanten Abfall des Glukosemetabolismus ($p < 0,05$, Abb. 2). Im Gegensatz dazu kam es in den Gehirnen der neugeborenen Tiere in Kleinhirn und Mittelhirn nur zu entsprechenden leichten Verminderungen. Die Glukoseumsatzraten waren in diesen Bereichen nicht signifikant erniedrigt. Demgegenüber waren auch in Cortex, Basalganglien, Hippocampus und Thalamus der neugeborenen Tiere deutliche Verminderungen des Glukosemetabolismus bei tiefer Anästhesie durch Thiopental nachweisbar ($p < 0,05$, Abb.2).

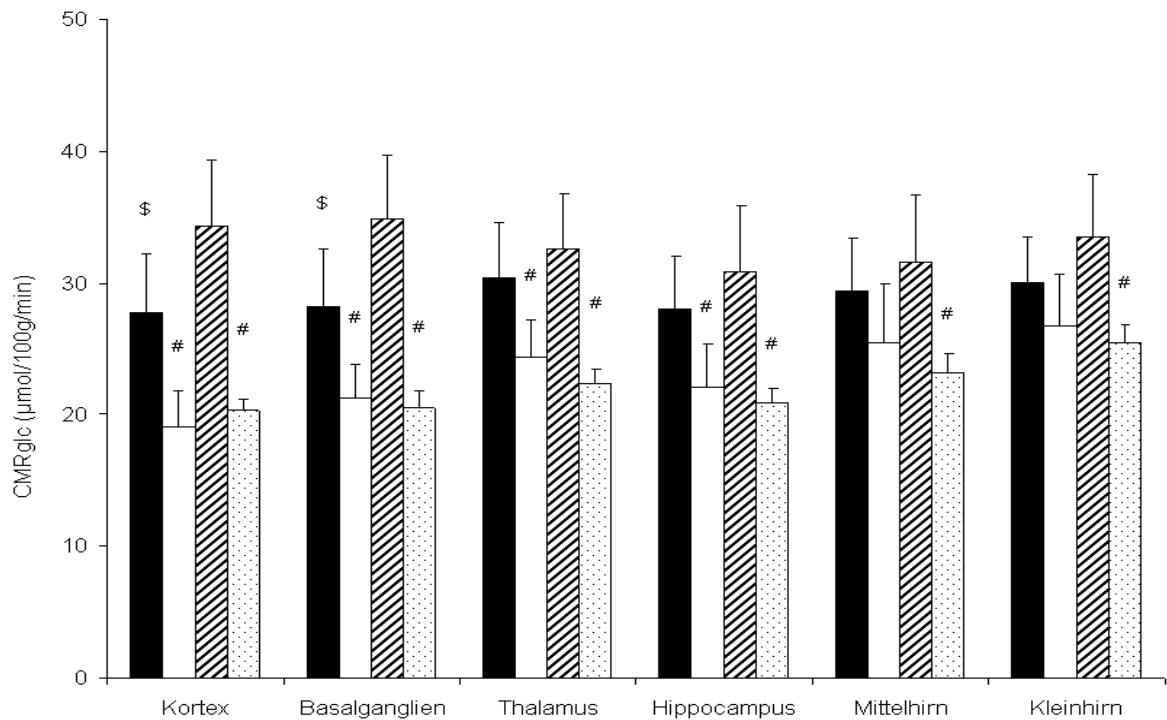


Abb. 2: Auswirkungen einer zu tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) führenden Thiopental-Infusion auf die regionale Glukoseumsatzrate (CMRglc).

(Daten dargestellt als MW + SD. Gruppe 1A: NG-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung (schwarze Säulen, n=7); Gruppe 1B: NG-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS) (weiße Säulen, n=7); Gruppe 2A: Juv-Ferkel mit leichter Isofluran-Sedierung (schraffierte Säulen, n=5); Gruppe 2B: Juv-Ferkel mit tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion (BS) (gepunktete Säulen, n=6); # \$ p < 0,05; # signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Altersgruppe beim Vergleich von leichter Isofluran-Sedierung und tiefer Anästhesie durch Thiopental – Infusion zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt, \$ signifikante Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppe mit gleicher Behandlung zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.)

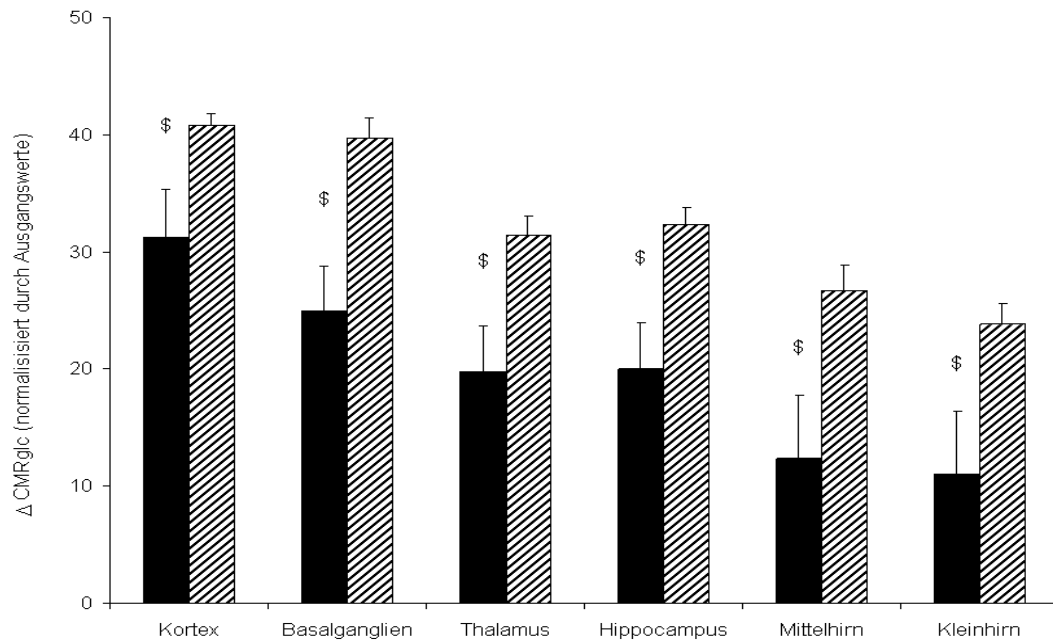


Abb. 3: Quantitative Darstellung des differenziellen Unterschieds in der regionale Glukose-Umsatzrate ($\Delta \text{CMR}_{\text{glc}}$) zwischen/unter milder Isofluran-Sedierung und zu tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) fñhrenden Thiobarbital-Infusion (Daten dargestellt als MW + SD. Schwarze Säulen: neugeborene Tiere der Gr. 1A&1B; Gestreifte Säulen: juvenile Tiere der Gr. 2A&2B; \$ $p < 0,05$ signifikante Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppe).

Bei der differentiellen Quantifizierung des Einflusses von milder Isofluran-Sedierung und zu tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression, BS) fñhrender Thiopental-Infusion auf die regionale Glukoseumsatzraten ($\Delta \text{CMR}_{\text{glc}}$) ergab sich in allen untersuchten Hirnregionen deutliche Altersunterschiede von 10-25 % ($p < 0,05$, Abb. 3).

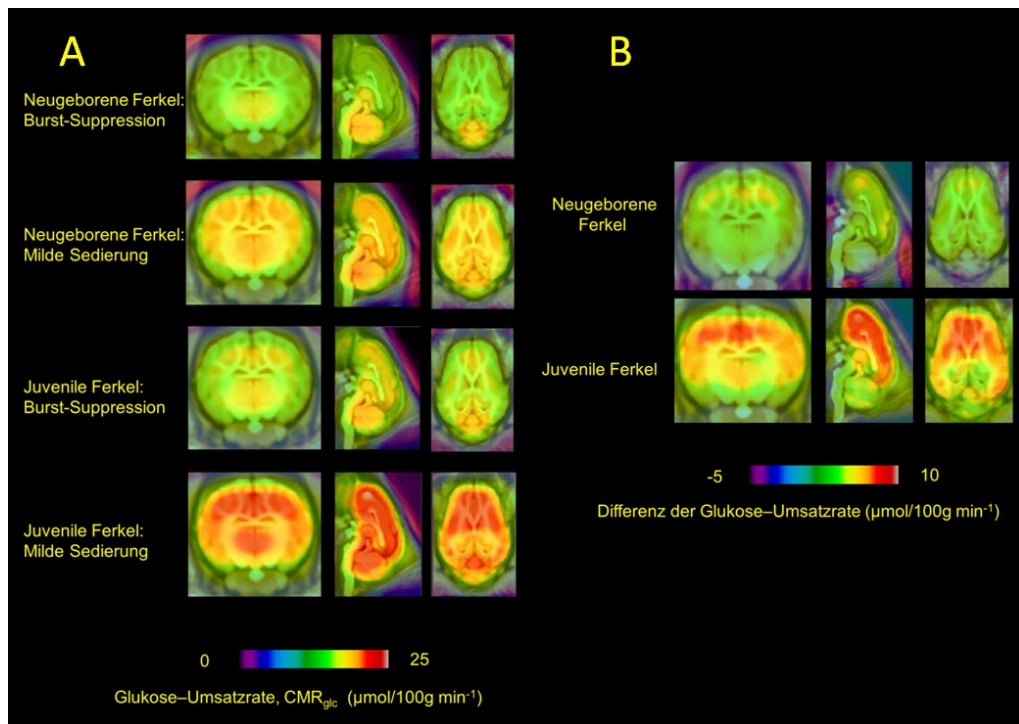


Abb. 4: Parameter-Abbildungen (gemittelte Bilder) der Glukoseumsatzrate (bestimmt durch Positronen - Emissions - Tomographie [18F] und Fluorodeoxyglukose (FDG-PET)
A: bei neugeborenen und juvenilen Ferkeln während milder Sedierung bzw. tiefer hirnelektrischer Depression (Burst-Suppression) infolge Thiopental-Infusion.
B: zeigt das zugehörige Subtraktionsbild der beiden Altersgruppen.

Dies wird auch bei der gemittelten bildlichen Darstellung der altersabhängigen regionalen Glukoseumsatzraten bei milder Sedierung und tiefer hirnelektrischer Depression (Abb. 4, A), sowie deren Differenz (Abb. 4, B) deutlich.

4 Diskussion

4.1 Methodendiskussion

4.1.1 Das Tiermodell

Ziel der Arbeit war es, das Ausmaß des durch tiefe Anästhesie verminderten zerebralen Energiebedarfs im Neugeborenenalter zu untersuchen, da dies bisher unbekannt ist, jedoch deshalb von Interesse ist, weil in dieser Entwicklungsphase beim Übergang vom intrauterinen zum postnatalen Leben infolge der Transition zu Lungenatmung und Kreislaufumstellung eine besonders vulnerable Lebensperiode, auch im Hinblick auf die zerebrale Energieversorgung besteht. Durch Bestimmung dieses Anteils des zerebralen Energiebedarfs, der durch tiefe Anästhesie supprimierbar ist, kann das Ausmaß der Hirnprotektion quantifiziert werden, der bei kritischer Einschränkung der zerebralen Energieversorgung durch die medikamentöse Ausschaltung der zerebralen Signalverarbeitungsprozesse infolge der Induktion einer tiefen Bewusstlosigkeit (auch Barbiturat-Coma genannt) erreicht werden kann. Der durch tiefe Anästhesie supprimierbare Anteil des zerebralen Energiebedarfs wird nach Nemoto und Mitarbeitern auch „funktioneller“ Anteil des Hirnenergiestoffwechsels genannt und dem nicht durch Anästhetika/Sedativa supprimierbaren Anteil des zerebralen Energiebedarfs gegenübergestellt, der als basaler Hirnstoffwechsel bezeichnet wurde (Nemoto, Klementavicius et al. 1996).

Dabei ist die Wahl eines passenden Tiermodells von erheblicher Bedeutung, eine weitgehende Übertragbarkeit der gewonnenen Ergebnisse auf die Bedingungen beim menschlichen Neugeborenen zu gewährleisten. Aufgrund seiner morphologischen und physiologischen Ähnlichkeit zum menschlichen Neugeborenen gilt das normalgewichtige neugeborene Ferkel für diese Zwecke als geeignetes tierexperimentelles Modell. Aus mehreren Gründen eignet sich das Schwein zur Erforschung der Hirnphysiologie des Menschen während der postnatalen Entwicklung. Neben hämatologischen, respiratorischen und renalen Übereinstimmungen in der ontogenetischen Entwicklung sind auch Gehirnentwicklung, zerebrovaskuläre Entwicklung und zerebraler Metabolismus mit den Reifungsvorgängen beim menschlichen Neugeborenen hinsichtlich der zugrundeliegenden Dynamik gut vergleichbar (Glauser 1966; Dobbing and Sands 1979; Lind, Moustgaard et al. 2007; Conrad, Dilger et al. 2012). Zum Zeitpunkt der Geburt ist das Schwein bezüglich des Grades an Hirnreifung, dem Menschen sehr ähnlich, wobei das neugeborene Ferkel

funktionell gesehen schon deutlich weiter ausgereift erscheint, da es bereits laufen, vokalisieren und als Mitglied einer sozialen Gruppe fungieren kann. Dobbing und Sands (1979) zeigten, dass Mensch und Schwein ein – auf den Geburtstermin bezogen – weitgehend übereinstimmendes Gehirnwachstumsmuster aufweisen, dabei einen um den Geburtstermin nachweisbaren Hirnwachstumsspur aufweisen, so dass beide Spezies als „perinatale Hirnentwickler“ bezeichnet werden (Dobbing and Sands 1973). Weiterhin sind die Entwicklung der elektrischen Hirnaktivität als auch der elektroenzephalographischen Muster vergleichbar entwickelt (Duhaime 2006). Ebenso soll die Hirndurchblutung eines wachen, normalen Ferkels mit der des wachen Säuglings weitgehend übereinstimmen (Wootton, Flecknell et al. 1982).

Beachtet werden muss jedoch dabei, dass Reifung und Wachstumsrate des Gehirns beim Schwein erheblich schneller verlaufen als beim Menschen: So entspricht ein 5 Tage altes Ferkel einem neugeborenen Kind, ein 1 Monate altes Schwein einem Kleinkind und ein 4 Monate altes Schwein einem Jugendlichen (Hagberg, Ichord et al. 2002; Duhaime 2006). Das Alter der Versuchstiere muss so gewählt werden, dass der Entwicklungsstand dem des menschlichen Neugeborenen und Kleinkindes entspricht. Nach Flecknell und Mitarbeitern entspricht in Bezug auf Parameter des Hirnenergiestoffwechsels 1 Jahr des Menschen etwa 7 Tagen beim Schwein, so dass die in unserem Experiment untersuchten 2-4 Tage alten Ferkel ungefähr einem 3-6-monatigem Säugling und die 48 Tage alten Schweine ungefähr einem 6-7-jährigen Kind entsprechen (Flecknell, Wootton et al. 1982). Bezieht man sich auf die Entwicklung des Hirnvolumens, so weisen neugeborene Ferkel (Alter: 2-4 Tage) und reife menschliche Neugeborene jeweils ~25% des adulten Hirnvolumens auf (Lenroot and Giedd 2006; Conrad, Dilger et al. 2012)). Juvenile Ferkel (Alter: 6-8 Wochen) weisen ein deutlich ausgereifteres Gehirn auf (~60-70% des adulten Hirnvolumens) und entsprechen dem des menschlichen Kleinkindes von 3-4 Jahren (Lenroot and Giedd 2006; Conrad, Dilger et al. 2012).

Sowohl beim Menschen als auch beim Schwein ist Glukose der Hauptmetabolit des zerebralen Stoffwechsels, wobei im Neugeborenen- und Säuglingsalter der Anteil des Gehirns am Gesamtglukoseumsatz des Körpers beim Schwein ca. 16% beträgt und beim Menschen 60-90% betragen kann. Da aber das Gehirn des Menschen in diesem Entwicklungsalter ungefähr 12% des Körpergewichts ausmacht und das des Schweins lediglich 2-3%, ergibt sich somit eine ähnliche zerebrale Glukoseumsatzrate für das Gehirn (Flecknell, Wootton et al. 1982).

4.1.2 *Versuchsbedingungen und Messmethoden*

Als Anästhesiekonzept für die chirurgischen Versuchsvorbereitungen und die Aufrechterhaltung einer zur Analgesie ausreichenden leichten Sedierung während der experimentellen Durchführung wurde ein Isofluran / Lachgas / O₂ Kombinationsnarkose verwendet. Allen dampfförmigen Inhalationsanästhetika ist eine kardio- und atemdepressive Wirkung, eine Erhöhung der Hirndurchblutung, des zerebralen Blutvolumens und des intrakraniellen Druckes sowie eine Senkung der Hirnfunktion gemein. Jedoch ist für Isofluran eine geringere kardiodepressive Wirkung beschrieben als für Halothan oder Enfluran. Auch sind die zerebralen Nebenwirkung bei niedriger Dosierung (< 1MAC) minimal. Durch gleichzeitige Gabe von Lachgas wird die minimale alveoläre Konzentration (MAC) vermindert, was einer Erhöhung der Wirkstärke entspricht. Weiterer Vorteil dieser Kombination ist eine Verringerung der blutdrucksenkenden Wirkung von Isofluran, da Lachgas eine sympathoadrenerge Wirkung besitzt und somit der Abnahme des arteriellen Mitteldruckes und der Senkung des peripheren Widerstandes entgegenwirkt (Larsen 2006). Die minimale alveoläre Konzentration für Isofluran liegt beim neugeborenen Schwein bei 1,4 Vol% (Lerman, Oyston et al. 1990). Nach Abschluss der operativen Vorbereitungen und somit weitgehendem Ausschluss von Nozizeption-auslösenden Aktionen, wurden die Isoflurannarkose auf 0,25 Vol% erniedrigt sowie eine Erholungsphase gewährt, so dass die durch das Anästhetikum bedingten Nebenwirkungen minimiert werden konnten. Dabei ist nach vorliegenden Untersuchungen jedoch gewährleistet, dass eine ausreichende Sedierung und Analgesie vorliegt, da die unter diesen Bedingungen gemessenen autonomen, hormonellen und metabolischen Auswirkungen denen von wachen, unbeeinflussten neugeborenen Ferkeln weitgehend entsprechen (Lerman, Oyston et al. 1990; Bauer, Brust et al. 2000b).

Im weiteren Versuchsablauf wurde zur Induktion einer tiefen Anästhesie mit vorgegebenem Ausmaß (BSM von ~0,6) das Narkotikum Thiopental eingesetzt, da dieses Medikament einen raschen Wirkungseintritt zeigt und dadurch gut steuerbar ist. Thiopental führt dosisabhängig zu einer Senkung des zerebralen Glukose- und Sauerstoffverbrauchs mit konsekutiver Senkung der Hirndurchblutung, wobei die maximale Wirkung bei Dosen erreicht wird, die zu einem isoelektrischen EEG führen. Jedoch sind die dabei auftretenden kardiodepressiven Auswirkungen dann erheblich und führen ggf. zu kritischen Reduktionen des arteriellen Blutdrucks mit der Gefahr der Unterschreitung der unteren

Schwelle der zerebralen Autoregulation und gradueller Hirnischämie (Walter, Aisenpreis et al. 2010). Deshalb wurde eine tiefe Anästhesie mit vorgegebener Suppression der hirnelektrischen Aktivität (BSM von $\sim 0,6$) induziert, bei der sowohl eine maximale Hirnprotektion bei Hirnischämie im reifen Gehirn gewährleistet ist (Warner, Takaoka et al. 1996) und trotzdem der arterielle Mitteldruck kaum beeinflusst wird (Tabelle 1).

Aufgrund einer erhöhten hepatischen Clearance ist bei Kindern eine wesentlich höhere Dosierung von Thiopental als bei Erwachsenen notwendig, um vergleichbare hirnelektrischen Effekte zu erzielen (Russo and Bressolle 1998). Dadurch benötigten die neugeborenen Schweine eine wesentlich höhere Einleitungs- und Erhaltungsdosis zur Erzeugung eines Burst-Suppression-Musters als die älteren Tiere der Vergleichsgruppe.

Um eine vergleichbare Narkosetiefe und somit vergleichbare Bedingungen der Suppression an hirnelektrischer Aktivität zu schaffen, war es notwendig die richtige Dosierung des Barbiturates Thiopental zu ermitteln, bei der neugeborene und juvenile Ferkel das gleiche Ausmaß an Burst-Suppression im ECoG aufweisen. Dazu wurde der Burst-Suppression-Index verwendet (Rampil, Weiskopf et al. 1988), der unter Ausgangsbedingungen in allen 4 Gruppen einen Wert zwischen 0,90-0,92 hatte und somit als Index für leichte Sedierung in allen Gruppen angesehen werden kann. Unter Thiopentaleinfluss ergab sich bei entsprechend adaptierter Thiopental-Dosierung in beiden Altersgruppen ein übereinstimmender Burst-Suppression-Index von 0,60-0,65, so dass in den Thiopental-behandelten Gruppen von übereinstimmender Sedierungstiefe auszugehen ist.

Für die Beurteilung der Stoffwechselaktivität einzelner Hirnareale war die Ermittlung der entsprechenden zerebralen Durchblutung erforderlich, um gegebenenfalls auftretende regionale Störungen der Hirndurchblutung mit konsekutiver kritischer Einschränkung des O_2 – u/o Glukoseangebots auszuschließen. Mittels farbmarkierter Mikrosphären erfolgte die Bestimmung der regionalen Hirndurchblutung. Das Prinzip dieser Methode ist die Verteilung der farbmarkierten Partikel im Gefäßbett des zu untersuchenden Hirnareals und die Quantifizierung der regionalen Durchblutung zum Zeitpunkt der Messung. Nach Injektion der Mikrosphären in den linken Vorhof des Herzens und optimaler Durchmischung mit dem zirkulierenden Blut, bleiben sie bei erster Kreislaufpassage, wegen ihrer Größe ($\varnothing \sim 15 \mu m$) irreversibel in der Mikrozirulation hängen. Dank ähnlicher Dichte und Fließeigenschaften wie Erythrozyten, vermischen sich die applizierten Mikrosphären mit dem Blut ausreichend gut und weisen eine übereinstimmende Verteilung

wie Erythrozyten im Gefäßbett auf. Historisch gesehen wurden zunächst die Mikrosphären radioaktiv markiert (Domenech, Hoffman et al. 1969; Hales 1973). Sie hatten jedoch wegen der Radioaktivität und damit verbundene Gesundheitsrisiken den Nachteil, eine spezielle Ausrüstung der Labore und teure Entsorgung des radioaktiven Abfalls erforderlich zu machen. Mit der Entwicklung von farbigen bzw. fluoreszierenden Mikrosphären etablierten sich nichtradioaktive Methoden zur Durchblutungsmessung (Prinzen and Glenney 1994; Walter, Bauer et al. 1997). Methodische Studien konnten nachweisen, dass farbmarkierte Mikrosphären die Durchblutungssituation verschiedener Gewebe im neugeborenen Schwein ebenso präzise messen wie radioaktivmarkierte Partikel (Walter, Bauer et al. 1997). Somit stellt diese Technik eine geeignete und valide Methode dar, die zerebrale Durchblutungssituation einzelner Hirnabschnitte in neugeborenen und juvenilen Schweinen zu ermitteln.

Zur Beurteilung der Hirnaktivität stehen verschiedene funktionelle bildgebende Verfahren zur Verfügung, die die damit verbundenen Zustandsänderungen (elektrisch, hämodynamisch, metabolisch) erfassen. Bei der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) wird durch Bestimmung von Blutfluss und Oxygenierung des Blutes, das sogenannte BOLD-Signal (blood-oxygen-level-dependent) erfasst und damit indirekt auf den Aktivitätszustand geschlossen (Raichle 1998). Ein anderes Verfahren stellt die MRT-Spektroskopie dar, bei der zeitliche Veränderungen von Metaboliten des zerebralen Energiestoffwechsels erfasst werden und darüber durch geeignete kinetische Modelle entsprechende Umsatzraten für Schlüsselparameter des zerebralen Energiestoffwechsels (z.B. ATP, Glukose- u.a. Umsatzraten) auch im unreifen Gehirn bestimmt werden können (Corbett, Laptook et al. 1993).

Methodische Grundlage der hier vorgestellten Untersuchungen war die Bestimmung des regionalen zerebralen Glukosestoffwechsels zur Quantifizierung des zerebralen Funktions- bzw. Basalstoffwechsels (Nemoto, Klementavicius et al. 1996). Das Verfahren der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) bietet dabei die Möglichkeit durch Verwendung des glukoseanalogen Tracers (2-[¹⁸F]luoro-2-Deoxy-D-Glukose = 18FDG) die regionale Glukoseumsatzrate des Gehirns zu bestimmen und stellt beim Menschen und auch bei Labortieren eine eingeführte, valide Methode dar (Phelps, Huang et al. 1979). Bedingt durch Grenzen der räumlichen Auflösung der meisten PET-Scanner, eignen sich ausreichend große Tiere für PET-Studien. Poulsen und Mitarbeiter (1997) konnten nachweisen, dass das Schwein ein geeignetes Tier für Untersuchungen der

Hirndurchblutung, der $CMRO_2$ und auch des zerebralen Glukosemetabolismus mittels PET ist (Poulsen, Smith et al. 1997).

Als Glukoseanalogon diene 18-Fluorodeoxyglukose (^{18}FDG), das wie Glukose in die Zellen transportiert und dort zu 18-F- 2-DG-6-Phosphat phosphoryliert wird, wo es im Gegensatz zu physiologischer Glukose nicht weiter verarbeitet werden kann und so in den Nervenzellen gespeichert wird. Durch PET-Kameras wird das mit Fluor markierte Biomolekül detektiert und liefert eine zuverlässige Quantifizierung der regionalen zerebralen Stoffwechselrate von Glukose (Phelps, Huang et al. 1979). Dieses Verfahren eignet sich besonders zur Darstellung metabolischer Prozesse, da im Gegensatz zur funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) die Stoffwechselaktivität direkt bestimmt wird und nicht auf Grund von Blutfluss und Blutoxygenierung auf den Aktivitätszustand geschlossen werden muss.

Das Prinzip der Positronen-Emissions-Tomographie mit 18-FDG basiert auf dem 3-Kompartiment-Modell (Sokoloff 1979). Dementsprechend müssen 3 Kompartimente berücksichtigt werden, das vaskuläre Kompartiment (1.), das durch die Blut-Hirn-Schranke vom intrazellulären Kompartiment (2.) getrennt wird. In der Zelle befindet sich als 3., ein metabolisches Kompartiment. Wie weiter oben bereits beschrieben reichert sich das Stoffwechselprodukt der Deoxyglukose, das DG-6-P, in den Zellen an, da es im Gegensatz zu Glukose kein Substrat der Hexokinase ist und demzufolge nicht weiter metabolisiert werden kann. In dem Modell von Sokoloff wird von einem konstanten Blutfluss als auch gleichbleibenden kinetischen Konstanten (K_1 -4) ausgegangen (Siehe anhängende Darstellung). K_1 und K_2 stellen einen Übertragungskoeffizienten vom Blut ins Gehirn dar, K_3 die Phosphorylisierung und K_4 die Dephosphorylisierung der Deoxyglukose. Im Modell von Sokoloff wird K_4 vernachlässigt und davon ausgegangen, dass der Tracer irreversibel in der Zelle verbleibt. Durch die Arbeitsgruppe von Phelps wurde dieses Modell erweitert und die Hydrolyse (K_4) des DG-6-P berücksichtigt (Phelps, Huang et al. 1979).

Drei-Kompartiment-Modell für F-18 Fluordeoxyglukose

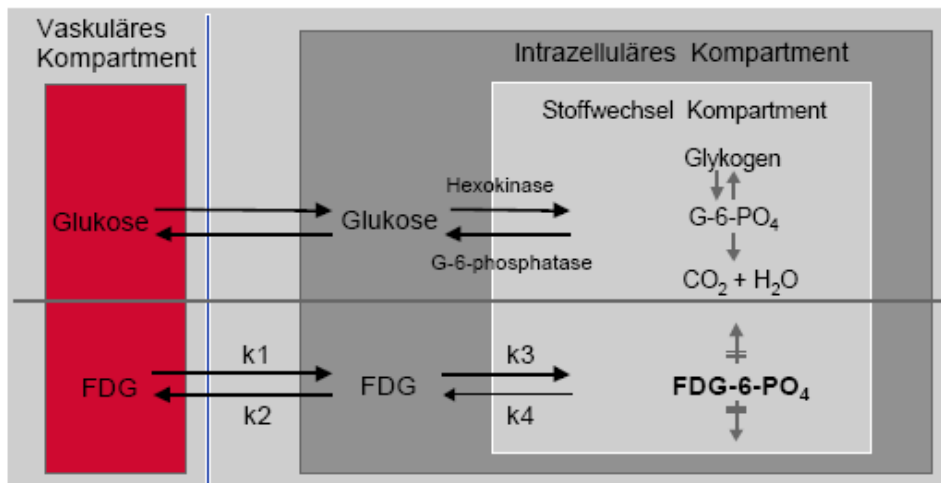


Abb. 5: Drei-Komponentenmodell nach Sokoloff (Sokoloff 1979) zur Berechnung des regionalen zerebralen Glukosestoffwechsels.

Weiterhin ist es erforderlich, die Phosphorylierungsrate des Tracers durch die Hexokinase zu ermitteln, weil ^{18}F FDG grundsätzlich weniger effektiv umgesetzt wird als Glukose. Dafür ist zur korrekten Kalkulation des regionalen Glukosemetabolismus die „lumped constant“ (LC) verwendet worden, eine Konstante, die die Unterschiede der Transport- und Phosphorylierungsraten zwischen Glukose und FDG berücksichtigt und charakteristisch für jede Tierspezies ist. Die LC ist das Verhältnis der metabolischen Rate von FDG zu der metabolischen Rate von Glukose, als solche indirekt proportional zum Glukosemetabolismus und von entscheidender Bedeutung für die Genauigkeit der Messung (Sokoloff 1979; Krohn, Muzi et al. 2007).

Zur Quantifizierung der Glukoseaufnahme aus dem Gewebe sind beim PET Messung und Kalkulation der Radioaktivitäts-Konzentrationen im Plasma (C_p) über die Zeit notwendig, um die zeitliche Abfolge der arteriellen Glukose-Zufuhr zum Gehirn durch Ermittlung der Input-Funktion für das kinetische Modell zu berechnen. Dies wird bei der graphischen Analyse nach Patlak und bei der Nutzung des Deoxyglukosemodell nach Sokoloff durch die sequenzielle Entnahme arterieller Blutproben während der Bildgebung realisiert (Suhonen-Polvi, Ruotsalainen et al. 1995). Die Berechnung der Rate des regionalen zerebralen Glukosemetabolismus erfolgte mit Hilfe dieser Parameter nach folgender Formel:

$$r\text{CMR}_{\text{glc}} = C_p / \text{LC} * (K_1 * K_2) / (K_2 + K_3).$$

Zur Berechnung der globalen Sauerstoff- und Glukoseumsatzrate wurde der Blutfluss des Vorderhirns mit der arterio-venösen Sauerstoff- bzw. Glukosedifferenz des Vorderhirns multipliziert. Als Vorderhirn werden diejenigen Hirnanteile zusammengefasst, die vom Sinus sagittalis superior drainiert werden. Dazu zählen der zerebrale Cortex, die zerebrale weiße Substanz sowie Teile des Thalamus, Hippocampus und Stammganglien, von denen die Durchblutungsrate bestimmt wurden. Bereits Coyle und Mitarbeiter verwendeten diese Vorgehensweise zur Berechnung der globalen Sauerstoff- und Glukoseumsatzraten bei Ferkeln (Coyle, Oh et al. 1993). Diese Berechnungen basieren auf dem Fick'schen Prinzip, das besagt, dass die von einem zu untersuchenden Organ aufgenommene Menge eines Stoffes, durch Berechnung der Differenz der Mengen im Zufluss- und Abflusstrakt des betreffenden Organs, zu ermitteln ist ($\Delta m = m_{\text{art.}} - m_{\text{ven.}}$). Multipliziert man diesen Wert mit der Durchblutungsrate des zu untersuchenden Organs erhält man die entsprechende Umsatzrate.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Einfluss des Alters und der Thiopentalbehandlung auf zerebralen

Glukosemetabolismus und Sauerstoffverbrauch

Hauptsubstrat des kindlichen zerebralen Metabolismus stellt Glukose dar, so dass durch Untersuchung des zerebralen Glukosemetabolismus wichtige Aussagen hinsichtlich der Energieversorgung des kindlichen Gehirns, einschließlich einer Zuordnung zu funktionellem (durch Thiopental supprimierbar, der zerebralen Signaltransduktion zuzurechnend) bzw. basalem (hauptsächliche für die Aufrechterhaltung/Wiederherstellung des zellulären Ruhemembranpotenzials und anabolen Prozessen zuzuordnend) zerebralem Energiestoffwechsel, getroffen werden können. Dies ist auch von grundsätzlicher Bedeutung für die Bewertung von Behandlungsstrategien hinsichtlich ihrer neuroprotektiven Relevanz bei der Behandlung von Zuständen, in denen es zu einer energetischen Unterversorgung im Gehirn kommen kann (Ischämie, Hypoxie und Hypoglykämie).

Die in dieser Studie gemessenen Werte der zerebralen Glukoseumsatzrate zeigen einen altersbedingten Unterschied: Die juvenilen Schweine wiesen einen höheren Umsatz als die Neugeborenen auf. So zeigten juvenile Ferkel bei der nach dem Fick'schen Prinzip ermittelten CMR_{glc} des Vorderhirns unter Ausgangsbedingungen eine um ~20% höhere CMR_{glc} ($40 \pm 6 \mu\text{mol/l}$) als neugeborene Tiere ($32 \pm 6 \mu\text{mol/l}$, $p < 0,05$). Die durch ^{18}FDG -PET ermittelte CMR_{glc} mit $34 \pm 5 \mu\text{mol/l}$ bei juvenilen Ferkeln und $28 \pm 4 \mu\text{mol/l}$ bei neugeborenen Ferkel ergab eine um ~18% verminderte CMR_{glc} des Vorderhirns. Die Ursachen für die (relativ geringen) Differenzen in den Absolutwerten können aufgrund der vorliegenden Ergebnisse dieser Studie nicht eruiert werden und waren auch nicht Gegenstand dieser Untersuchung. Jedoch könnte die Unterschätzung der Absolutwerte durch die mittels ^{18}FDG -PET ermittelten CMR_{glc} -Werte durch den Partialvolumeneffekt bedingt sein, der durch die endliche Ortsauflösung des PET-Scanners verursacht wird und vom Verhältnis der gewählten ROI-Größe zur Ortsauflösung des Scanners abhängt. Der hier eingesetzte PET-Scanner EXACT Hr⁺ hat eine transaxiale Bildauflösung von 4-5 mm (Brix, Doll et al. 1997), so dass beispielsweise die Quantifizierung der CMR_{glc} des zerebralen Cortex, dessen axiale Ausdehnung je nach Region mit etwa 2-5 mm deutlich unterhalb der transaxiale Bildauflösung liegen kann. Die ermittelte Unterschätzung in den Absolutwerten um ~ 20% entspricht entsprechenden methodischen Studien. Jedoch kann

davon ausgegangen werden, dass die durch Intervention (Thiopental-induzierte CMR_{glc} -Minderung) induzierten prozentualen Veränderungen korrekt ermittelt werden (Rousset, Deep et al. 2000; Thomas, Erlandsson et al. 2011).

Die altersbezogenen Veränderungen in der CMR_{glc} stimmen mit in der Literatur gefundenen Angaben überein, wonach mit zunehmender Reifung, regionaler Heterogenität und funktioneller Aktivität der zerebrale Glukoseverbrauch in Folge erhöhten zerebralen Energiebedarfs ansteigt (Vannucci and Vannucci 2000). Die Entwicklung des regionalen Glukosemetabolismus des Menschen vom Säuglings- bis ins Erwachsenenalter wurde ausführlich schon in Arbeiten von Chugani und Phelps (1986) untersucht. In Übereinstimmung mit der funktionellen Reife des Gehirns Neugeborener sind danach sensomotorischer Cortex, Hirnstamm, Thalamus, Mittelhirn und Kleinhirnwurm, diejenigen Regionen mit dem höchsten zerebralen Glukoseumsatz. (Chugani and Phelps 1986). Beim Vergleich der von uns erhobenen regionalen Werte des zerebralen Glukoseumsatzes lässt sich dieses Muster nachweisen. In den Regionen, die für elementare Funktionen zuständig sind und bereits im Neugeborenenalter weitgehend ausgereift sind, zeigen sich hohe Umsatzraten (Mittelhirn, Kleinhirn, Thalamus), die annähernd adulte Werte aufweisen. Die größte Differenz der Glukoseumsatzrate zwischen neugeborenen und juvenilen Schweinen war im Cortex zu finden, was in Übereinstimmung mit der unterschiedlichen funktionellen Reife des Cortex beider Altersgruppen steht.

Um Rückschlüsse auf die altersbezogenen Anteile am funktionellen und basalen zerebralen Energieumsatz ziehen zu können, wurde der durch Thiopental supprimierbare Anteil der CMR_{glc} ermittelt, der den für die regionale zerebrale Signalverarbeitung erforderlichen Energieumsatz repräsentiert (Nemoto, Klementavicius et al. 1996). Bei den neugeborenen Ferkeln konnte pauschal eine CMR_{glc} -Senkung im Vorderhirn um ca. 45%, bei den juvenilen Ferkeln um 50% registriert werden. Somit entfallen ca. 55% des Glukoseverbrauchs des Neugeborenengehirns auf den basalen Stoffwechsel, während es beim juvenilen Gehirn ca. 50% sind. Nemoto und Mitarbeiter erhielten bei Untersuchungen an ausgewachsenen Affen für den basalen Glukosemetabolismus einen Anteil von ca. 40% am gesamten zerebralen Glukoseumsatz (Nemoto, Klementavicius et al. 1994). Tendenziell sinkt also der Anteil des basalen Glukosemetabolismus mit steigendem Alter, woraus sich schließen lässt, dass bei zunehmender Ausreifung ein geringerer Anteil des Energiebedarf zur Aufrechterhaltung der zellulären Funktionsfähigkeit notwendig ist. Dies lässt den Schluss zu, dass im unreifen Hirn

vermehrt Energie für den Grundumsatz und Syntheseprozesse benötigt wird, u.a. bedingt durch die vermehrte Axon- und Dendritenbildung, Gliazellvermehrung und Myelinisation (Dobbing and Sands 1979; Erecinska, Cherian et al. 2004).

Insgesamt fällt auf, dass der zerebrale Glukosestoffwechsel in allen untersuchten Hirnabschnitten der Neugeborenen weniger suppressibel ist (um 11%-31%), als der der älteren Tiere (um 24%-41%). Die geringsten Reduktionen, die auch statistisch keine Signifikanz zeigten, traten im Bereich des Mittelhirns (Reduktion um 13%) und des Kleinhirns (Reduktion um 11%) bei neugeborenen Ferkeln auf. Hier entfallen ungefähr 90% des Glukosestoffwechsels auf den sog. basalen Stoffwechselanteil, woraus sich eine erhöhte Sensibilität dieser Strukturen gegenüber einer Substratmangelversorgung vermuten lässt. Dies könnte durch die zeitlich unterschiedliche Ausreifung der verschiedenen Hirnstrukturen bedingt sein. Im Gehirn Neugeborener lässt sich die stärkste metabolische Aktivität im Bereich des sensomotorischen Cortex, Thalamus, Mittelhirn-Hirnstamm und im Kleinhirnwurm nachweisen, was in zeitlichem Zusammenhang mit den neuronalen Wachstumsprozessen (Synaptogenese, Axonbildung etc.) und der schon etablierten Funktionalität (Dominieren der Hirnstammreflexe und sensorischen Fähigkeiten) steht (Chugani, Phelps et al. 1987). Besonders das Kleinhirn unterliegt postnatal einem rasanten Wachstum; es durchläuft einen wesentlich rascheren „Growth spurt“, der bereits im Alter von 18 Monaten abgeschlossen ist (Dobbing and Sands 1973). Untersuchungen am Schwein ergaben einen biphasischen „Growth spurt“ mit einem ersten Gipfel kurz vor der Geburt (110 Tage post conception, p.c.) und einem 2. Gipfel nach der Geburt (140 Tage p.c.). Diese Phase ist auch in Hinblick auf den „Growth spurt“ des gesamten Gehirns eines Schweines (Entwicklungsgipfeln von 90 und 130 Tage p.c.) kürzer (Pond, Boleman et al. 2000). Klein- und Mittelhirn des Neugeborenen kommen somit eine besondere Bedeutung in der frühen postnatalen Entwicklung zu. Hier sind die stärksten strukturellen Veränderungen zu finden, die mit einem erhöhten Grundumsatz einhergehen.

Die stärksten CMR_{glc} -Reduktionen traten in beiden Altersgruppen im Bereich des Cortex (-31% NG vs -41% Juv), der Basalganglien (-25% vs. -40%) und des Thalamus (-20% vs. -32%) auf. Dies könnte neben den unterschiedlichen Ausreifungszeitpunkten der Hirnregionen auch mit deren Funktionalität unter Narkoseeinfluss zusammenhängen. Anästhetika bewirken eine Modifikation der Vigilanz, bei Erhaltung lebenswichtiger basaler Funktionen, die vor allem im Hirnstamm lokalisiert sind, während die

Anästhesiewirkung besonders im frontalen Cortex, Striatum und Thalamus mit einer Reduktion des zerebralen Metabolismus verbunden ist (Brown, Lydic et al. 2010).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass im unreifen Gehirn die Zuteilung der zerebralen Energie, besonders in den dominierenden Strukturen des unreifen Gehirns, zugunsten des Basalstoffwechsels verschoben ist. Bei einer anhaltenden Substratmangelversorgung wird zunächst der Funktionsstoffwechsel eingestellt, bis anschließend der Basalstoffwechsel betroffen ist (Astrup 1982).

Der Basalmetabolismus ist zu einem für die Aufrechterhaltung des Membranionengradienten (durch Na^+ und K^+ -Rücktransport) und zum anderen für eine Reihe weiterer Prozessen, wie Ca^{2+} -Transport, Synthese von Zellmaterial (Proteine, Phospholipide, Transmitter) und den axoplasmatischen Transport verantwortlich. Bei Beeinträchtigungen des basalen Metabolismus kommt es zum Abbau von ATP, in dessen Folge ein Na^+ - K^+ -Pumpen-Defekt mit Membrandepolarisation und dadurch bedingten strukturellen Schädigungen entstehen kann (Astrup 1982; Erecinska, Cherian et al. 2004).

Dieser basale Energieverbrauch kann durch membranstabilisierende Effekte weiter reduziert werden (z.B. durch Bedingungen, die den membranösen Ionenfluss hemmen). Das kann zum einen durch eine Hypothermie als auch hohe Dosen von Na^+ -Kanalblockern (z. B. Lidocain) bewirkt werden und führt zu einer Senkung der basalen metabolischen Umsatzraten von Sauerstoff und Glukose. Barbiturate hingegen hemmen den synaptischen Transport und haben dementsprechend nur Einfluss auf den funktionellen Metabolismus (Astrup, Sorensen et al. 1981). Therapeutischer Hypothermie wird eine höhere Effizienz in der neuroprotektiven Wirkung bei ischämischer Hirnverletzung zugeschrieben, obwohl es im Gegensatz zu den Barbituraten den zerebralen Sauerstoffverbrauch nur um ~20% senkt, im Vergleich zu 50% durch eine Barbituratbehandlung. Dies lässt sich u.a. auf die oben beschriebenen unterschiedlichen Ansatzpunkte von Barbituraten und Hypothermie erklären (Nemoto, Klementavicius et al. 1996). Inzwischen ist jedoch hinsichtlich der molekularbiologischen Wirkmechanismen von therapeutischer Hypothermie (TH) ein sehr viel differenzierteres Bild bekannt: TH eignet sich als therapeutisches Prinzip zur Neuroprotektion für den klinischen Einsatz, weil sie eine zeitkritische Einflussnahme auf sehr unterschiedliche und zum Teil divergierende pathogenetische Prozesse akuter neuronaler Schädigungen ermöglicht. So wird neben der Senkung des zellulären Energiebedarfs die Exzitotoxizität und deren Auswirkungen deutlich reduziert, der

oxidative Stress vermindert, Neuroinflammation readjustiert und Apoptose gehemmt (Polderman and Herold 2009; Bauer and Schubert 2012).

Insgesamt kann man feststellen, dass eine Unterversorgung (z. B. Hypoglykämie) im unreifen Gehirn, schneller zum Funktionsverlust von Hirnzellen und daraus resultierend bleibenden Hirnschäden führen muss. So fanden Yager und Mitarbeiter heraus, dass eine insulin-induzierte Hypoglykämie bei 7-Tage alten Ratten die Sterblichkeit deutlich erhöht, während bei fastenden Tieren, durch Steigerung der Ketogenese und damit bessere Substratversorgung, eine geringere Sterblichkeit und Verbesserung des neuropathologischen Outcomes erreicht werden konnte (Yager, Brucklacher et al. 1992). Bei älteren Tieren mit weitgehend ausgereiftem zerebralem Energiestoffwechsel ist eine stärkere Senkung des zerebralen Glukosestoffwechsels möglich, ohne dass der Strukturstoffwechsel der Zellen beeinträchtigt wird. Im Cortex ist so eine Suppression von bis zu 40% des Hirnstoffwechsels möglich. Demzufolge wird im reiferen Gehirn prozentual weniger Energie für die Aufrechterhaltung der zellulären Integrität benötigt, und ein deutlich größerer Energieanteil muss aufgrund steigender funktioneller Reife für den Funktionsmetabolismus aufgewendet werden.

Wird der Sauerstoffbedarf ins Verhältnis zum Glukoseverbrauch gesetzt, erhält man den Sauerstoff-Glukose-Index ($OGI = \text{Oxygen-Glucose-Index}$). Damit kann, unabhängig vom zerebralen Blutfluss, die Balance zwischen Sauerstoff- und Glukoseverbrauch des Gehirns quantifiziert werden (Cohen, Wollman et al. 1964; Pigula, Siewers et al. 2001). Untersuchungen des kindlichen Gehirns unter einer hypothermen Behandlung ergaben deutliche Erniedrigungen des OGI, resultierend aus einem verminderten Sauerstoffbedarf bei gleichbleibender Glukoseaufnahme (Pigula, Siewers et al. 2001). Die eigenen Daten ergaben für die neugeborenen Tiere Werte von durchschnittlich 5,9 unter milder und 6,1 unter tiefer Sedierung. Dies steht in Übereinstimmung mit den in der Literatur zu findenden Angaben für wache, gesunde Ferkel (Flecknell, Wootton et al. 1982). Bei den juvenilen Tieren ergaben sich Werte von $\sim 4,8$ unter einer milden Sedierung und $\sim 6,4$ unter einer tiefen Thiopentalanästhesie. Daraus ist formal zu schlussfolgern, dass der zerebrale O_2 -Bedarf der juvenilen Tiere unter milder Sedierung im Verhältnis zum zerebralen Glukosebedarf deutlich vermindert ist und demzufolge auch der aerobe Metabolismus reduziert ist. Demgegenüber weisen Literaturangaben von 6,1 in jungen, anästhesierten Schweinen eine zu erwartende Stöchiometrie zwischen CMR_{glc} und $CMRO_2$ aus (Poulsen,

Smith et al. 1997). In einer Studie an Hunden konnte ein dosisabhängiger (graduelle Zunahme der Isoflurankonzentration bis 3% [d.h. ~2MAC])) Abfall des $CMRO_2$, in Verbindung mit einer verminderten kortikalen elektrischen Aktivität nachgewiesen werden, ohne dass es Hinweise für eine Veränderung der normalen oxidativen Phosphorylierung gab (Newberg, Milde et al. 1983). Auch die eigenen Ergebnisse mit geringerem hirnvenösen Laktatgehalt bei juvenilen Schweinen sprechen gegen einen erhöhten anaeroben Hirnmetabolismus. Folglich ist am ehesten ein systematischer Fehler bei der $CMRO_2$ -Bestimmung im vorliegenden experimentellen Setting für die niedrigen OGI der juvenilen Tiere unter den Bedingungen von milder Sedierung verantwortlich zu machen.

4.2.2 Einfluss des Alters und der Thiopentalbehandlung auf die Hirndurchblutung (CBF)

Phasen erhöhten Hirnwachstums gehen mit einem parallelen Anstieg des CBF einher, in Übereinstimmung mit der psychomotorischen und neurophysiologischen Entwicklung des menschlichen Gehirns (Wintermark, Lepori et al. 2004). Im menschlichen Hirn ist demzufolge die Hirndurchblutung im Gehirn Neugeborener am niedrigsten, steigt parallel mit der schon beschriebenen Wachstumskurve an, um im ersten Lebensjahrzehnt seinen Höhepunkt zu erreichen und um anschließend auf Erwachsenenenniveau abzufallen. Dabei existieren regionale Unterschiede entsprechend den Reifungsprozessen der einzelnen Hirnregionen (Takahashi, Shirane et al. 1999).

Für die Entwicklung des Gehirns von Schweinen, konnte dies nicht durchgängig nachgewiesen werden. So wurden mehrfach Befunde publiziert, die unter den gegebenen experimentellen Bedingungen keine Unterschiede des CBF zwischen neugeborenen und älteren Tieren nachwiesen (Ichord, Kirsch et al. 1991; Armstead and Kurth 1994; Walter, Aisenpreis et al. 2010; Winter, Dörner et al. 2011). In einer weiteren Studie wurde ein Anstieg des CBF bei juvenilen Schweinen publiziert (Nomura, Forbess et al. 1996). Im Gegensatz dazu beschrieben Harada und Mitarbeiter eine signifikant höhere zerebrale Durchblutungsrate bei neugeborenen (1-3Tage alt) und juvenilen Schweinen (1-Monat alten) gegenüber adulten (7-Monat alten) Artgenossen (Harada, Takaku et al. 1991). Als Ursache dafür wird die Reife und hohe neuronale Dichte des Gehirns eines neugeborenen Ferkels diskutiert. Eine triphasische Entwicklung, bei relativ niedrigen Werten im Säuglingsalter, Höchstwerten im Jugendalter und anschließendem Abfall auf Erwachsenenenniveau beschreibt eine weitere Studie an Schweinen unterschiedlichen Alters

(Durham, Raghupathi et al. 2000). Ursache für diese unterschiedlichen Ergebnisse können die verschiedenen Messmethoden wie auch Anästhesieregime sein, welche z.T. zu einer Reduktion des CBF führen und so ggf. alters- und entwicklungsbedingte Unterschiede verschleiern können. Die von Durham u. Mitarbeitern (2000) verwendete Kombinationsnarkose von Isofluran, Lachgas und O₂ bedingt neben einer muskelrelaxierenden Wirkung einen vasodilatorischen Effekt, weswegen eine altersbedingt unterschiedliche Änderung der Hirndurchblutung nicht auszuschließen ist (Lee, Hudetz et al. 1994). Für α -Chloralose (von Walter et al. 2010 und Armstead et al. 1994 verwendet) wird im Vergleich mit anderen Narkotika ein geringerer Einfluss auf die neuronal-hämodynamische Kopplung beschrieben (Ueki, Mies et al. 1992). Barbituratnarkosen gehen bekanntermaßen mit einer deutlichen Reduktion der Hirndurchblutung einher. Nach den hier vorgelegten Daten hängt der altersabhängige Effekt entscheidend von der jeweiligen Narkosetiefe ab, und sollte somit bei vergleichenden Betrachtungen so gut wie möglich mitberücksichtigt werden. Ein weiterer Einflussfaktor der auch die altersbedingte Reaktionsweise der Hirndurchblutung beeinflussen könnte, ist die künstliche Beatmung der Tiere, da dies mit einer deutlich reduzierten neuronalen Aktivität in Hirnstamm, Thalamus und Kleinhirn einhergeht, verbunden mit einem erniedrigten Blutfluss in diesen Regionen (Zwiener, Walter et al. 2003).

Die eigenen Untersuchungen ergaben, dass die zerebrale Durchblutung des Vorderhirns bei neugeborenen Ferkeln unter Ausgangsbedingungen tendenziell (um 16%) höher war als bei juvenilen Ferkeln. Dies entspricht bereits früher erhobener Daten der eigenen Arbeitsgruppe (Walter, Brust et al. 2004; Walter, Aisenpreis et al. 2010). Vor allem im Bereich von Hirnstamm und Thalamus war ein ausgeprägter Altersunterschied zu erkennen (Tab.5). In diesen Gebieten war die Durchblutung bei den Neugeborenen mit durchschnittlich 66-67 ml/100g/min am höchsten. In den anderen Regionen ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede. Frühere Untersuchungen an neugeborenen Ferkeln ergaben ein ähnliches Muster mit den höchsten Durchblutungsraten in unterem Hirnstamm, Thalamus und Kleinhirn (Bauer, Bergmann et al. 1999a; Zwiener, Walter et al. 2003), was in Übereinstimmung mit den Höchstwerten des regionalen zerebralen Glukosemetabolismus und der entwicklungsbedingten Reifung steht. .

Ebenso wie beim globalen Glukosemetabolismus konnte eine deutliche Reduktion der globalen Hirndurchblutung durch Thiopental sowohl bei neugeborenen als auch juvenilen Tieren (um ~ 50%) nachgewiesen werden. Das stimmt weitgehend mit Literaturbefunden

überein. So konnte an adulten Schweinen eine dosisabhängige CBF- Reduktion unter Thiopental von 36-58% nachgewiesen werden (Bjorkman, Nilsson et al. 1994). Untersuchungen an adulten Affen ergaben, dass ~36% des zerebralen Blutflusses durch Thiopental supprimierbar sind (Nemoto, Klementavicius et al. 1994). Weitere Studien erbrachten eine CBF- Reduktion von ~ 50% unter Barbituratnarkosen bei Ratten (Klementavicius, Nemoto et al. 1996), Hunden (Michenfelder 1974) bzw. neugeborenen und adulten Schafen (Donegan, Traystman et al. 1985). Demzufolge müssen dosisabhängige und altersspezifische Auswirkungen von Thiopental auf den CBF berücksichtigt werden.

Bei Betrachtung der regionalen Durchblutung konnte in nahezu allen untersuchten Hirnregionen, sowohl bei den neugeborenen Ferkeln als auch den juvenilen Schweinen eine signifikante Senkung der Hirndurchblutung unter Thiopental im Vergleich zu den Ausgangswerten festgestellt werden. Einzige Ausnahme bildet das Kleinhirn der Neugeborenen. Dies könnte zum einen mit den von uns erhobenen relativ niedrigen Ausgangswerten zusammenhängen, zum anderen steht es in Übereinstimmung mit der geringen Reduzierbarkeit des CMRglc, parallel zu der weiter oben beschriebenen schnellen Entwicklung dieser Hirnregion. Insgesamt ergaben sich in beiden Altersgruppen die ausgeprägtesten rCBF- Reduktionen im Bereich von Cortex und Basalganglien. In diesen Regionen war somit der CBF-senkende Einfluss einer tiefen Anästhesie am deutlichsten. Danach ist schon bei neugeborenen Ferkeln die supprimierende Narkosewirkung in diesen Hirnregionen besonders ausgeprägt und entspricht damit den Bedingungen im adulten Gehirn (Brown, Lydic et al. 2010).

Um Rückschlüsse auf den oxidativen Metabolismus ziehen zu können, bietet sich die Sauerstoffextraktionsfraktion (OEF) als ein weiterer Parameter an. Die OEF ist ein Maß für die Sauerstoff-Ausschöpfung eines Gewebes (O_2 -Verbrauch/ O_2 -Angebot). Bei erhöhtem systemischem Bedarf steigt aufgrund sympathikotoner Aktivierung das systemische O_2 -Angebot, und in Abhängigkeit von der sich einstellenden zirkulatorischen Umverteilung verändert sich die Organverteilung des Herzminutenvolumens und damit der O_2 -Verteilung. Für das Gehirn resultiert üblicherweise eine Aufrechterhaltung bzw. Verbesserung der O_2 -Versorgung. Fällt der zerebrale Perfusionsdruck unter die autoregulatorischen Grenzen ab, führt das zwangsläufig zu druckpassivem CBF-Abfall. Durch OEF-Erhöhung, d.h. verstärkter Ausschöpfung des O_2 -Angebots, kann der zerebrale Energiemetabolismus partiell aufrechterhalten werden (Kety, King et al. 1950; Derdeyn,

Videen et al. 2002). Die in dieser Studie erhobenen Daten zeigen, dass die CBF durch Thiopental stärker supprimiert wird als die CMRO₂. Es wird eine leichte, jedoch systematische Erhöhung der zerebralen O₂-Extraktionsrate bei Thiopental-Anästhesie in beiden Altersgruppen nachgewiesen.

4.2.3 Einfluss des Alters und der Thiopentalbehandlung auf die kardiovaskulären und Blutgas- Parameter, sowie Parameter des Säure-Basenstatus

Die unter Kontrollbedingungen erhobenen kardiovaskulären Parameter stimmten mit den in der Literatur gefundenen weitgehend überein, so dass man von korrekten Ausgangsbedingungen ausgehen kann (Gootman, Gootman et al. 1972; Lundeen, Manohar et al. 1983; Lerman, Oyston et al. 1990; Zuckerman, Armstead et al. 1996).

In den eigenen Untersuchungen wiesen neugeborene Ferkel einen niedrigeren mittleren arteriellen Blutdruck und eine höhere Herzfrequenz auf als ihre älteren Artgenossen ($p < 0,05$). Einen signifikant niedrigeren MABP neugeborener Ferkel lässt sich in verschiedenen experimentellen Studien an Schweinen unterschiedlicher Narkoseregimes nachweisen (Zuckerman, Armstead et al. 1996; Durham, Raghupathi et al. 2000; Walter, Aisenpreis et al. 2010). Während unter Narkosen mit α -Chloralose keine signifikanten Altersunterschiede für die Herzfrequenz nachweisbar sind (Zuckerman, Armstead et al. 1996; Walter, Aisenpreis et al. 2010), ist unter einer andauernden Isofluran-Lachgasnarkose eine signifikant höhere HR bei neugeborenen Ferkeln vorzufinden (Durham, Raghupathi et al. 2000). Dies steht in Übereinstimmung mit den von uns erhobenen Werten für MABP und HR unter dem Einfluss einer milden Sedierung mit einer Isofluran-Lachgasnarkose.

Thiopental führt beim Menschen dosisabhängig zu zunehmender peripherer Vasodilatation und myokardialer Depression mit konsekutiver Senkung des systemischen Blutdruckes sowie Erhöhung der Herzfrequenz (Todd, Drummond et al. 1985; Turner, Wakim et al. 2005). In einer Studie an juvenilen Schweinen (2-3 Monate alt) ergab sich eine kurzfristige Blutdruck-Senkung im Rahmen einer Thiopental-Bolus-Injektion mit darauffolgender vollständiger oder teilweiser Rückkehr zum Ausgangsniveau (Makiranta, Jauhiainen et al. 2002). Diese Befunde sind somit weitgehend in Übereinstimmung mit den von uns erfassten Daten.

Die relevanten Blutparameter zur Beurteilung der Beatmungsqualität, des Gasaustausches, des Säure-Basenstatus und Energiestoffwechsels stimmten unter Kontrollbedingungen mit Literaturangaben für neugeborene (Bauer, Walter et al. 1999; Bauer, Bergmann et al. 1999a; Wehrend, Failing et al. 2003) und juvenile Schweine (Lundeen, Manohar et al. 1983; Walter, Aisenpreis et al. 2010) überein. Die Werte des arteriellen CO₂-Partialdruck, des arteriellen pH-Wert und die Elektrolytkonzentrationen waren weder alters- noch behandlungsbedingt verändert. Hämoglobingehalt sowie Glukose- und Laktatkonzentrationen waren altersabhängig different. Der Laktatgehalt, sowohl des arteriellen als auch hirnvenösen Blutes, war bei neugeborenen Tieren rund doppelt so hoch wie in den juvenilen Tieren. Laktat ist insbesondere während der Neugeborenenperiode ein wichtiges Substrat zur Aufrechterhaltung der Energiehomeostase, besonders kurz nach der Geburt, wenn Glukoneogenese und Ketogenese noch ineffektiv sind (Medina 1985). Auch die etwas höheren Glukosekonzentrationen bei den älteren Tieren entsprechen einschlägigen Literaturangaben (Vannucci and Vannucci 2000).

5 Schlussfolgerungen

Anliegen dieser Arbeit war es, den Einfluss einer tiefen Barbiturat-Anästhesie (Burst-suppression induzierend) auf den zerebralen Metabolismus des unreifen Gehirns und dessen potenziell neuroprotektiven Auswirkungen, anhand von vergleichenden Untersuchungen an neugeborenen und juvenilen Schweinen, zu untersuchen. Der durch Thiopental suppressierbare Anteil des zerebralen Metabolismus entspricht dem Anteil, der für energieverbrauchende Prozesse, die mit synaptischer Aktivität verbunden sind, benötigt wird (funktioneller Metabolismus). Der nicht durch Thiopental suppressierbare Anteil ist danach für die Aufrechterhaltung von Struktur und Funktionsfähigkeit des Hirngewebes erforderlich (basaler Metabolismus).

Tiefe Sedierung, gekennzeichnet durch ein identisches Ausmaß eines Burst Suppression-Musters im ECoG, führte bei juvenilen Ferkeln zu einem deutlich stärkeren Abfall der regionalen CMR_{glc} ($P < 0,05$) als bei neugeborenen Ferkeln. Der CMR_{glc} -Abfall war im Cortex juveniler Tiere mit etwa 40% am stärksten und im Kleinhirn mit etwa 25% am geringsten ausgeprägt. Demgegenüber waren die regionalen CMR_{glc} im Neugeborenengehirn weniger stark reduzierbar und wiesen in Bezug auf die Werte im juvenilen Gehirn jeweils eine Differenz von 10 – 25% auf ($P < 0,05$).

Bezüglich der für diese Untersuchungsserie postulierten Hypothesen ergab sich:

1. Bei Betrachtung der globalen und regionalen Parameter des zerebralen Energiemetabolismus (CMRO_2 , CMR_{glc} , rCMR_{glc}) ergaben sich, bei übereinstimmender ECoG-Suppression, auch weitgehend übereinstimmende Absolutwerte in beiden Altersgruppen. Demzufolge ergab sich für neugeborene und juvenile Schweine ein annähernd äquivalentes basales Energieniveau unter der gewählten Thiopentalanästhesie.
2. Die Reduktion des zerebralen Energiemetabolismus durch Thiobarbital-Anästhesie war tatsächlich bei juvenilen Ferkeln stärker ausgeprägt als in neugeborenen Ferkeln. Somit bestätigte sich die Annahme, dass bei juvenilen Ferkeln, deren Hirnentwicklung menschlichen Kleinkindern im Alter von etwa 4 Jahren entspricht, aufgrund fortgeschrittener Synaptogenese und Myelinisierung ein höheres Ausmaß an Signalverarbeitung vorhanden ist, als bei einer Hirnaktivität von Neugeborenen.

3. Daraus ist die übergreifende und medizinisch bedeutsame Schlussfolgerung zu ziehen, dass eine Sedativa/Anästhetika-induzierte Suppression der hirnelektrischen Aktivität im unreiferen Neugeborenenhirn im Hinblick auf den energiesparenden Effekt eine deutlich weniger relevante Bedeutung aufweist, als im ausgereifteren Gehirn, mithin der neuroprotektive Effekt als eher gering anzunehmen ist.

Nachfolgende Untersuchungen sollten so geplant werden, dass insbesondere die Frage geklärt werden kann, ob im unreifen Gehirn der verifizierte - wenn auch im Vergleich zum ausgereiften Gehirn weniger ausgeprägte - Effekt der Verringerung des zerebralen Energiebedarfs durch Suppression der hirnelektrischen Aktivität hinsichtlich einer Neuroprotektion den durch Sedativa/Anästhetika-induzierten neurotoxischen Effekt verstärkter Neuroapoptose kompensieren kann.

6 Literaturübersicht

- Alkire, M. T., R. J. Haier, et al. (1995). "Cerebral metabolism during propofol anesthesia in humans studied with positron emission tomography." Anesthesiology **82**(2): 393-403; discussion 327A.
- Anand, K. J. (2001). "Consensus statement for the prevention and management of pain in the newborn." Arch Pediatr Adolesc Med **155**(2): 173-180.
- Anand, K. J., W. G. Sippell, et al. (1987). "Randomised trial of fentanyl anaesthesia in preterm babies undergoing surgery: effects on the stress response." Lancet **1**(8524): 62-66.
- Armstead, W. M. and C. D. Kurth (1994). "Different cerebral hemodynamic responses following fluid percussion brain injury in the newborn and juvenile pig." J Neurotrauma **11**(5): 487-497.
- Ashwal, S., P. S. Dale, et al. (1984). "Regional cerebral blood flow: studies in the fetal lamb during hypoxia, hypercapnia, acidosis, and hypotension." Pediatr Res **18**(12): 1309-1316.
- Astrup, J. (1982). "Energy-requiring cell functions in the ischemic brain. Their critical supply and possible inhibition in protective therapy." J Neurosurg **56**(4): 482-497.
- Astrup, J., P. M. Sorensen, et al. (1981). "Inhibition of cerebral oxygen and glucose consumption in the dog by hypothermia, pentobarbital, and lidocaine." Anesthesiology **55**(3): 263-268.
- Barks, J. D., Y. Q. Liu, et al. (2010). "Phenobarbital augments hypothermic neuroprotection." Pediatr Res **67**(5): 532-537.
- Bauer, R., R. Bergmann, et al. (1999a). "Regional distribution of cerebral blood volume and cerebral blood flow in newborn piglets--effect of hypoxia/hypercapnia." Brain Res Dev Brain Res **112**(1): 89-98.
- Bauer, R., P. Brust, et al. (2000b). "Relation between brain tissue pO₂ and dopamine synthesis of basal ganglia--a 18FDOPA-PET study in newborn piglets." J Perinat Med **28**(1): 54-60.
- Bauer, R. and H. Schubert (2012). "Therapeutische Hypothermie – pathophysiologische und molekularbiologische Implikationen der Hirnprotektion." Intensiv- und Notfallbehandlung **37**: 1-9.
- Bauer, R., B. Walter, et al. (2003). "Impact of asymmetric intrauterine growth restriction on organ function in newborn piglets." Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **110 Suppl 1**: S40-49.
- Bauer, R., B. Walter, et al. (1999). "A piglet model for evaluation of cerebral blood flow and brain oxidative metabolism during gradual cerebral perfusion pressure decrease." Pediatric neurosurgery **30**(2): 62-69.
- Bjorkman, S., F. Nilsson, et al. (1994). "The effect of thiopental on cerebral blood flow, and its relation to plasma concentration, during simulated induction of anaesthesia in a porcine model." Acta Anaesthesiol Scand **38**(5): 473-478.
- Blomgren, K. and H. Hagberg (2006). "Free radicals, mitochondria, and hypoxia-ischemia in the developing brain." Free Radic Biol Med **40**(3): 388-397.
- Boveroux, P., V. Bonhomme, et al. (2008). "Brain function in physiologically, pharmacologically, and pathologically altered states of consciousness." Int Anesthesiol Clin **46**(3): 131-146.
- Brambrink, A. and A. Orfanakis (2010). ""Therapeutic hypercapnia" after ischemic brain injury: is there a potential for neuroprotection?" Anesthesiology **112**(2): 274-276.
- Brix, G., J. Doll, et al. (1997). "Use of scanner characteristics in iterative image reconstruction for high-resolution positron emission tomography studies of small animals." European journal of nuclear medicine **24**(7): 779-786.

- Brown, E. N., R. Lydic, et al. (2010). "General anesthesia, sleep, and coma." N Engl J Med **363**(27): 2638-2650.
- Brust, P., J. Zessin, et al. (2003). "Positron emission tomography imaging of the serotonin transporter in the pig brain using [11C](+)-McN5652 and S-([18F]fluoromethyl)-(+)-McN5652." Synapse **47**(2): 143-151.
- Chugani, H. T. (1998). "A critical period of brain development: studies of cerebral glucose utilization with PET." Prev Med **27**(2): 184-188.
- Chugani, H. T. and M. E. Phelps (1986). "Maturational changes in cerebral function in infants determined by 18FDG positron emission tomography." Science **231**(4740): 840-843.
- Chugani, H. T., M. E. Phelps, et al. (1987). "Positron emission tomography study of human brain functional development." Ann Neurol **22**(4): 487-497.
- Cilio, M. R. and D. M. Ferriero (2010). "Synergistic neuroprotective therapies with hypothermia." Semin Fetal Neonatal Med **15**(5): 293-298.
- Cohen, P. J., H. Wollman, et al. (1964). "Cerebral Carbohydrate Metabolism in Man during Halothane Anesthesia: Effects of Paco₂ on Some Aspects of Carbohydrate Utilization." Anesthesiology **25**: 185-191.
- Conrad, M. S., R. N. Dilger, et al. (2012). "Brain growth of the domestic pig (*Sus scrofa*) from 2 to 24 weeks of age: a longitudinal MRI study." Dev Neurosci **34**(4): 291-298.
- Conrad, M. S., R. N. Dilger, et al. (2012). "Magnetic resonance imaging of the neonatal piglet brain." Pediatr Res **71**(2): 179-184.
- Corbett, R. J., A. R. Laptook, et al. (1993). "Energy reserves and utilization rates in developing brain measured in vivo by ³¹P and ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy." J Cereb Blood Flow Metab **13**(2): 235-246.
- Coyle, M. G., W. Oh, et al. (1993). "Effects of indomethacin on brain blood flow and cerebral metabolism in hypoxic newborn piglets." The American journal of physiology **264**(1 Pt 2): H141-149.
- de Costello, L. A. M., D. K. Pal, et al. (2000). "Neonatal hypoglycaemia in Nepal 2. Availability of alternative fuels." Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed **82**(1): F52-58.
- Derdeyn, C. P., T. O. Videen, et al. (2002). "Variability of cerebral blood volume and oxygen extraction: stages of cerebral haemodynamic impairment revisited." Brain **125**(Pt 3): 595-607.
- Dickerson, J. W. T. and J. Dobbing (1967). "Prenatal and postnatal growth and development of the central nervous system of the pig." Proc R Soc Lond **166**: 384-395.
- Dirnagl, U., C. Iadecola, et al. (1999). "Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view." Trends Neurosci **22**(9): 391-397.
- Dobbing, J. and J. Sands (1973). "Quantitative growth and development of human brain." Arch Dis Child **48**(10): 757-767.
- Dobbing, J. and J. Sands (1979). "Comparative aspects of the brain growth spurt." Early Hum Dev **3**(1): 79-83.
- Domenech, R. J., J. I. Hoffman, et al. (1969). "Total and regional coronary blood flow measured by radioactive microspheres in conscious and anesthetized dogs." Circ Res **25**(5): 581-596.
- Donegan, J. H., R. J. Traystman, et al. (1985). "Cerebrovascular hypoxic and autoregulatory responses during reduced brain metabolism." Am J Physiol **249**(2 Pt 2): H421-429.
- Duffy, T. E., S. J. Kohle, et al. (1975). "Carbohydrate and energy metabolism in perinatal rat brain: relation to survival in anoxia." J Neurochem **24**(2): 271-276.

- Duhaime, A. C. (2006). "Large animal models of traumatic injury to the immature brain." Dev Neurosci **28**(4-5): 380-387.
- Durham, S. R., R. Raghupathi, et al. (2000). "Age-related differences in acute physiologic response to focal traumatic brain injury in piglets." Pediatr Neurosurg **33**(2): 76-82.
- Erecinska, M., S. Cherian, et al. (2004). "Energy metabolism in mammalian brain during development." Progress in neurobiology **73**(6): 397-445.
- Erecinska, M., S. Cherian, et al. (2005). "Brain development and susceptibility to damage; ion levels and movements." Curr Top Dev Biol **69**: 139-186.
- Flecknell, P. A., R. Wootton, et al. (1982). "Accurate measurement of cerebral metabolism in the conscious, unrestrained neonatal piglet. II. Glucose and oxygen utilization." Biology of the neonate **41**(5-6): 221-226.
- Franks, N. P. (2008). "General anaesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal." Nature reviews. Neuroscience **9**(5): 370-386.
- Franks, N. P. and A. Y. Zecharia (2011). "Sleep and general anesthesia." Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthesie **58**(2): 139-148.
- Glauser, E. M. (1966). "Advantages of piglets as experimental animals in pediatric research." Exp Med Surg **24**(2): 181-190.
- Gootman, N., P. M. Gootman, et al. (1972). "Central vasomotor regulation in the newborn piglet *Sus scrofa*." Am J Physiol **222**(4): 994-999.
- Greisen, G. (2005). "Autoregulation of cerebral blood flow in newborn babies." Early Hum Dev **81**(5): 423-428.
- guidelines, A. (2000). "Prevention and management of pain and stress in the neonate. American Academy of Pediatrics. Committee on Fetus and Newborn. Committee on Drugs. Section on Anesthesiology. Section on Surgery. Canadian Paediatric Society. Fetus and Newborn Committee." Pediatrics **105**(2): 454-461.
- Hagberg, H., R. Ichord, et al. (2002). "Animal models of developmental brain injury: relevance to human disease. A summary of the panel discussion from the Third Hershey Conference on Developmental Cerebral Blood Flow and Metabolism." Dev Neurosci **24**(5): 364-366.
- Hales, J. R. (1973). "Effects of heat stress on blood flow in respiratory and non-respiratory muscles in the sheep." Pflugers Arch **345**(2): 123-130.
- Harada, J., A. Takaku, et al. (1991). "Differences in critical cerebral blood flow with age in swine." J Neurosurg **75**(1): 103-107.
- Hawkins, R. A., D. H. Williamson, et al. (1971). "Ketone-body utilization by adult and suckling rat brain in vivo." Biochem J **122**(1): 13-18.
- Haxhija, E. Q., H. Rosegger, et al. (1995). "Vagal response to feeding tube insertion in preterm infants: has the key been found?" Early Hum Dev **41**(1): 15-25.
- Hernandez, M. J., R. W. Brennan, et al. (1980). "Autoregulation of cerebral blood flow in the newborn dog." Brain Res **184**(1): 199-202.
- Himwich, H. and J. Fazekas (1941). "Comparative studies of the metabolism of brain of infant and adult dog." Am J Physiol **132**: 454.
- Ichord, R. N., J. R. Kirsch, et al. (1991). "Age-related differences in recovery of blood flow and metabolism after cerebral ischemia in swine." Stroke **22**(5): 626-634.
- Ikonomidou, C., F. Bosch, et al. (1999). "Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain." Science **283**(5398): 70-74.
- Istaphanous, G. K., C. G. Ward, et al. (2010). "The impact of the perioperative period on neurocognitive development, with a focus on pharmacological concerns." Best practice & research. Clinical anaesthesiology **24**(3): 433-449.
- Jevtovic-Todorovic, V., R. E. Hartman, et al. (2003). "Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits." J Neurosci **23**(3): 876-882.

- Johnston, M. V., A. Fatemi, et al. (2011). "Treatment advances in neonatal neuroprotection and neurointensive care." Lancet Neurol **10**(4): 372-382.
- Kalhan, S. C., P. Parimi, et al. (2001). "Estimation of gluconeogenesis in newborn infants." Am J Physiol Endocrinol Metab **281**(5): E991-997.
- Kety, S. S., B. D. King, et al. (1950). "The effects of an acute reduction in blood pressure by means of differential spinal sympathetic block on the cerebral circulation of hypertensive patients." J Clin Invest **29**(4): 402-407.
- Klementavicius, R., E. M. Nemoto, et al. (1996). "The Q10 ratio for basal cerebral metabolic rate for oxygen in rats." J Neurosurg **85**(3): 482-487.
- Koerner, I. P. and A. M. Brambrink (2006). "Brain protection by anesthetic agents." Curr Opin Anaesthesiol **19**(5): 481-486.
- Krohn, K. A., M. Muzi, et al. (2007). "What is in a number? The FDG lumped constant in the rat brain." J Nucl Med **48**(1): 5-7.
- Laptook, A., B. S. Stonestreet, et al. (1982). "Autoregulation of brain blood flow in the newborn piglet: regional differences in flow reduction during hypotension." Early Hum Dev **6**(1): 99-107.
- Larsen, R. (2006). Anästhesie. München, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag.
- Lee, J. G., A. G. Hudetz, et al. (1994). "The effects of halothane and isoflurane on cerebrocortical microcirculation and autoregulation as assessed by laser-Doppler flowmetry." Anesth Analg **79**(1): 58-65.
- Lenroot, R. K. and J. N. Giedd (2006). "Brain development in children and adolescents: insights from anatomical magnetic resonance imaging." Neurosci Biobehav Rev **30**(6): 718-729.
- Lerman, J., J. P. Oyston, et al. (1990). "The minimum alveolar concentration (MAC) and hemodynamic effects of halothane, isoflurane, and sevoflurane in newborn swine." Anesthesiology **73**(4): 717-721.
- Liem, K. D. and G. Greisen (2010). "Monitoring of cerebral haemodynamics in newborn infants." Early Hum Dev **86**(3): 155-158.
- Lind, N. M., A. Moustgaard, et al. (2007). "The use of pigs in neuroscience: modeling brain disorders." Neurosci Biobehav Rev **31**(5): 728-751.
- Lundeen, G., M. Manohar, et al. (1983). "Systemic distribution of blood flow in swine while awake and during 1.0 and 1.5 MAC isoflurane anesthesia with or without 50% nitrous oxide." Anesthesia and analgesia **62**(5): 499-512.
- Makiranta, M. J., J. P. Jauhiainen, et al. (2002). "Functional magnetic resonance imaging of swine brain during change in thiopental anesthesia into EEG burst-suppression level--a preliminary study." MAGMA **15**(1-3): 27-35.
- McDonald, J. W. and M. V. Johnston (1990). "Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development." Brain Res Brain Res Rev **15**(1): 41-70.
- Medina, J. M. (1985). "The role of lactate as an energy substrate for the brain during the early neonatal period." Biology of the neonate **48**(4): 237-244.
- Menon, G., K. J. Anand, et al. (1998). "Practical approach to analgesia and sedation in the neonatal intensive care unit." Semin Perinatol **22**(5): 417-424.
- Michenfelder, J. D. (1974). "The interdependency of cerebral functional and metabolic effects following massive doses of thiopental in the dog." Anesthesiology **41**(3): 231-236.
- Nemoto, E. M., R. Klementavicius, et al. (1994). "Effect of mild hypothermia on active and basal cerebral oxygen metabolism and blood flow." Adv Exp Med Biol **361**: 469-473.

- Nemoto, E. M., R. Klementavicius, et al. (1996). "Suppression of cerebral metabolic rate for oxygen (CMRO₂) by mild hypothermia compared with thiopental." Journal of neurosurgical anesthesiology **8**(1): 52-59.
- Newberg, L. A., J. H. Milde, et al. (1983). "The cerebral metabolic effects of isoflurane at and above concentrations that suppress cortical electrical activity." Anesthesiology **59**(1): 23-28.
- Nomura, F., J. M. Forbess, et al. (1996). "Influence of age on cerebral recovery after deep hypothermic circulatory arrest in piglets." Ann Thorac Surg **62**(1): 115-122.
- Phelps, M. E., S. C. Huang, et al. (1979). "Tomographic measurement of local cerebral glucose metabolic rate in humans with (F-18)2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: validation of method." Ann Neurol **6**(5): 371-388.
- Pigula, F. A., R. D. Siewers, et al. (2001). "Hypothermic cardiopulmonary bypass alters oxygen/glucose uptake in the pediatric brain." J Thorac Cardiovasc Surg **121**(2): 366-373.
- Polderman, K. H. and I. Herold (2009). "Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the intensive care unit: practical considerations, side effects, and cooling methods." Crit Care Med **37**(3): 1101-1120.
- Pond, W. G., S. L. Boleman, et al. (2000). "Perinatal ontogeny of brain growth in the domestic pig." Proc Soc Exp Biol Med **223**(1): 102-108.
- Poulsen, P. H., D. F. Smith, et al. (1997). "In vivo estimation of cerebral blood flow, oxygen consumption and glucose metabolism in the pig by [15O]water injection, [15O]oxygen inhalation and dual injections of [18F]fluorodeoxyglucose." Journal of neuroscience methods **77**(2): 199-209.
- Prinzen, F. W. and R. W. Glenny (1994). "Developments in non-radioactive microsphere techniques for blood flow measurement." Cardiovasc Res **28**(10): 1467-1475.
- Pryds, A., J. Tonnesen, et al. (2005). "Cerebral pressure autoregulation and vasoreactivity in the newborn rat." Pediatr Res **57**(2): 294-298.
- Raichle, M. E. (1998). "Behind the scenes of functional brain imaging: a historical and physiological perspective." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(3): 765-772.
- Rampil, I. J., R. B. Weiskopf, et al. (1988). "I653 and isoflurane produce similar dose-related changes in the electroencephalogram of pigs." Anesthesiology **69**(3): 298-302.
- Rousset, O. G., P. Deep, et al. (2000). "Effect of partial volume correction on estimates of the influx and cerebral metabolism of 6-[(18)F]fluoro-L-dopa studied with PET in normal control and Parkinson's disease subjects." Synapse **37**(2): 81-89.
- Russo, H. and F. Bressolle (1998). "Pharmacodynamics and pharmacokinetics of thiopental." Clin Pharmacokinet **35**(2): 95-134.
- Sandlin-Leming, D. C. (2011). "General anesthesia is a reversible coma, not a deep sleep." J Perianesth Nurs **26**(2): 122-123.
- Schlunzen, L., N. Juul, et al. (2012). "Regional cerebral blood flow and glucose metabolism during propofol anaesthesia in healthy subjects studied with positron emission tomography." Acta Anaesthesiol Scand **56**(2): 248-255.
- Semple, B. D., K. Blomgren, et al. (2013). "Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species." Progress in neurobiology **106-107**: 1-16.
- Sokoloff, L. (1979). "Mapping of local cerebral functional activity by measurement of local cerebral glucose utilization with [14C]deoxyglucose." Brain **102**(4): 653-668.
- Statler, K. D., H. Alexander, et al. (2006). "Comparison of seven anesthetic agents on outcome after experimental traumatic brain injury in adult, male rats." J Neurotrauma **23**(1): 97-108.

- Stratmann, G. (2011). "Review article: Neurotoxicity of anesthetic drugs in the developing brain." Anesthesia and analgesia **113**(5): 1170-1179.
- Suhonen-Polvi, H., U. Ruotsalainen, et al. (1995). "FDG-PET in early infancy: simplified quantification methods to measure cerebral glucose utilization." J Nucl Med **36**(7): 1249-1254.
- Takahashi, T., R. Shirane, et al. (1999). "Developmental changes of cerebral blood flow and oxygen metabolism in children." AJNR Am J Neuroradiol **20**(5): 917-922.
- Thibault, K. L. and S. S. Margulies (1998). "Age-dependent material properties of the porcine cerebrum: effect on pediatric inertial head injury criteria." J Biomech **31**(12): 1119-1126.
- Thomas, B. A., K. Erlandsson, et al. (2011). "The importance of appropriate partial volume correction for PET quantification in Alzheimer's disease." Eur J Nucl Med Mol Imaging **38**(6): 1104-1119.
- Thorngren-Jerneck, K., D. Ley, et al. (2001). "Reduced postnatal cerebral glucose metabolism measured by PET after asphyxia in near term fetal lambs." J Neurosci Res **66**(5): 844-850.
- Todd, M. M., J. C. Drummond, et al. (1985). "The hemodynamic consequences of high-dose thiopental anesthesia." Anesth Analg **64**(7): 681-687.
- Towfighi, J., D. Mauger, et al. (1997). "Influence of age on the cerebral lesions in an immature rat model of cerebral hypoxia-ischemia: a light microscopic study." Brain Res Dev Brain Res **100**(2): 149-160.
- Tuor, U. I. and D. Grewal (1994). "Autoregulation of cerebral blood flow: influence of local brain development and postnatal age." Am J Physiol **267**(6 Pt 2): H2220-2228.
- Turner, B. K., J. H. Wakim, et al. (2005). "Neuroprotective effects of thiopental, propofol, and etomidate." Aana J **73**(4): 297-302.
- Tweed, W. A., J. Cote, et al. (1983). "Arterial oxygenation determines autoregulation of cerebral blood flow in the fetal lamb." Pediatr Res **17**(4): 246-249.
- Tyler, D. B. and A. van Harreveld (1942). "The respiration of the developing brain." Am J Physiol **136**: 600-603.
- Ueki, M., G. Mies, et al. (1992). "Effect of alpha-chloralose, halothane, pentobarbital and nitrous oxide anesthesia on metabolic coupling in somatosensory cortex of rat." Acta Anaesthesiol Scand **36**(4): 318-322.
- Vannucci, R. C. and S. J. Vannucci (2000). "Glucose metabolism in the developing brain." Semin Perinatol **24**(2): 107-115.
- Vannucci, R. C. and J. Y. Yager (1998). Perinatal brain metabolism. Fetal and neonatal physiology, Second Edition. R. A. Polin and W. W. Fox. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Company. **Vol. 2**: 2123-2137.
- Walter, B., K. Aisenpreis, et al. (2010). "Age-dependent effects of gradual decreases in cerebral perfusion pressure on the neurochemical response in swine." Intensive Care Med **36**(6): 1067-1075.
- Walter, B., R. Bauer, et al. (1997). "Validation of the multiple colored microsphere technique for regional blood flow measurements in newborn piglets." Basic Res Cardiol **92**(3): 191-200.
- Walter, B., P. Brust, et al. (2004). "Age-dependent effects of severe traumatic brain injury on cerebral dopaminergic activity in newborn and juvenile pigs." J Neurotrauma **21**(8): 1076-1089.
- Walter, B., M. Eiselt, et al. (2013). "Resistance of brain glucose metabolism to thiopental-induced CNS depression in newborn piglets." Int J Dev Neurosci **31**(3): 157-164.

- Warner, D. S., S. Takaoka, et al. (1996). "Electroencephalographic burst suppression is not required to elicit maximal neuroprotection from pentobarbital in a rat model of focal cerebral ischemia." Anesthesiology **84**(6): 1475-1484.
- Wehrend, A., K. Failing, et al. (2003). "Reference values of electrolyte plasma concentrations in healthy piglets during the first 48 hours of life." J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med **50**(2): 67-71.
- Williams, J. M., A. D. Hull, et al. (2005). "Maturational modulation of endothelium-dependent vasodilatation in ovine cerebral arteries." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **288**(1): R149-157.
- Williams, R. K. (2011). "The pediatrician and anesthesia neurotoxicity." Pediatrics **128**(5): e1268-1270.
- Winter, J. D., S. Dorner, et al. (2011). "Noninvasive MRI measures of microstructural and cerebrovascular changes during normal swine brain development." Pediatr Res **69**(5 Pt 1): 418-424.
- Wintermark, M., D. Lepori, et al. (2004). "Brain perfusion in children: evolution with age assessed by quantitative perfusion computed tomography." Pediatrics **113**(6): 1642-1652.
- Wootton, R., P. A. Flecknell, et al. (1982). "Accurate measurement of cerebral metabolism in the conscious, unrestrained neonatal piglet. I. Blood flow." Biology of the neonate **41**(5-6): 209-220.
- Yager, J. Y., R. M. Brucklacher, et al. (1992). "Cerebral oxidative metabolism during hypothermia and circulatory arrest in newborn dogs." Pediatr Res **32**(5): 547-552.
- Zuckerman, S. L., W. M. Armstead, et al. (1996). "Age dependence of cerebrovascular response mechanisms in domestic pigs." Am J Physiol **271**(2 Pt 2): H535-540.
- Zwiener, U., B. Walter, et al. (2003). "Marked reduction of brainstem blood flow in artificially ventilated newborn piglets during normoxia and normocapnic hypoxia." Intensive Care Med **29**(12): 2277-2284.

Danksagung

Mein tiefer Dank gilt zunächst meiner gesamten Familie, die es mir ermöglicht hat, durch ihre Unterstützung, diese Arbeit anzufertigen.

Weiterhin gilt mein besonderer Dank:

Herrn **Prof. Dr. R. Bauer** für die Überlassung des Themas, die vielen Tipps und Empfehlungen, seine Geduld, die mir jederzeit gewährte Unterstützung, fachliche Beratung und kritische Durchsicht des Manuskriptes,

Herrn **Dr. B. Walter** für die Organisation, Vorbereitung, Durchführung und Nachbearbeitung der Versuche sowie den Mitarbeitern des Institutes für Pathophysiologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena die durch ihre Arbeit und Hilfe an der Umsetzung und Auswertung der Versuche mitgewirkt haben.

Herrn **Prof. Brust** und den *Mitarbeitern des PET-Zentrums vom Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institut für Radiopharmazie, Leipzig*, für die Überlassung der durch Positronen Emissionstomographie ermittelten Daten.

Veröffentlichung

Walter, B., M. Eiselt, Cumming P., Xiong G., Hinz E., **Uthe S.**, Brust P., Bauer R. (2013). "Resistance of brain glucose metabolism to thiopental-induced CNS depression in newborn piglets." Int J Dev Neurosci **31**(3): 157-164 (Walter, Eiselt et al. 2013)

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich Herr Prof. Dr. R. Bauer, Herr Prof. Brust und die Mitarbeiter des PET-Zentrums vom Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institut für Radiopharmazie, Leipzig bei der Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben, sowie Mitarbeiter des Institutes für Pathophysiologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena die Versuche und Analysen durchgeführt haben,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Mühlhausen, den 23.09.14

Unterschrift des Verfassers